

**Die Ausscheidung von Oestradiol,
Oestron und Oestriol im Zyklus
und in der Schwangerschaft**

Elisabeth Puzik

Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER I. FRAUENKLINIK UND HEBAMMENSCHULE DER
UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. W. Bickenbach

**Die Auscheidung von Oestradiol,
Oestron und Oestriol im Zyklus
und in der Schwangerschaft**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Elisabeth Puzik

aus Sakrau/Oberschlesien

München

1959



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. BICKENBACH

Dekan: Professor Dr. K. KOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 30.6.1959



In herzlicher Dankbarkeit

meinen lieben

Eltern

gewidmet

DISPOSITION

EINLEITUNG

I. ALLGEMEINER TEIL

1. Chemische Struktur und Vorkommen der Oestrogene.
2. Wirkungen und Stoffwechsel der Oestrogene.

II. METHODIK

1. Biologische Untersuchungsverfahren.
2. Chemische Bestimmungsmethoden.
3. Angewandte Methode nach BROWN zur Trennung der drei Oestrogenfraktionen.

III. SPEZIELLER TEIL

1. Zyklus
 - a) Literaturangaben über die Oestrogenausscheidung im Zyklus.
 - b) Eigene Untersuchungen über die Oestrogenausscheidung im Zyklus.
 - A) Normale Zyklen
 - B) Pathologische Zyklen
2. Schwangerschaft
 - a) Literaturangaben über die Oestrogenausscheidung in der Schwangerschaft.
 - b) Eigene Untersuchungen über die Oestrogenausscheidung in der Schwangerschaft.

IV. DISKUSSION

V. ZUSAMMENFASSUNG

VI. LITERATURVERZEICHNIS

EINLEITUNG

In enger Verbindung mit den reinen Naturwissenschaften konnten in den letzten Jahrzehnten auf dem Gebiet der Sexualhormonentwicklung Erkenntnisse gesammelt werden, die eine therapeutische Ära von hervorragender Bedeutung einleiteten.

Man erkannte, daß Hormonanalysen im Harn wertvolle Aufschlüsse über den endokrinen Ablauf im Organismus mit praktischen Konsequenzen für die Therapie geben. Allerdings mußten zunächst die Untersuchungsmethoden differenzierter werden, damit die Störungen in dem komplizierten System des hormonalen Geschehens zuverlässig erfaßt werden konnten.

Hierbei bewährten sich vor allem die chemischen Bestimmungsmethoden, die bei den Oestrogenen die unsichere Messung der biologischen Aktivität ersetzen und das tatsächlich vorhandene Hormon in Gewichtseinheiten angeben.

Der Engländer J. B. BROWN (10) entwickelte 1955 ein neues offenbar spezifisches chemisches Verfahren für die getrennte Bestimmung der drei natürlichen Oestrogenfraktionen: Oestradiol, Oestron und Oestriol. Diese Methode ermöglichte nicht nur eine ausreichende Trennung der drei Oestrogene im Harn von Männern und nicht graviden Frauen, sondern erfaßte auch Unterschiede der Oestrogenkonzentration im Harn in der Größenordnung von 4 γ /24 Stunden (11). Damit waren erstmals die Voraussetzungen für genaue, verwertbare Analysen bei den verschiedenen Funktionszuständen der Frau voll gegeben.

I. ALLGEMEINER TEIL

1. Chemische Struktur und Vorkommen der Oestrogene

Als vor 36 Jahren, im Jahre 1923, ALLEN und DOISY (2) eine Testmethode veröffentlichten, die es erlaubte, oestrogene Hormone in sehr kleinen Mengen nachzuweisen, lag der chemischen Erforschung dieser für die Brunstwirkung verantwortlichen Substanz nichts mehr im Wege.

Zunächst ging man daran, verschiedene Organe und Körperflüssigkeiten auf ihren Gehalt an Brunsthormon zu prüfen. Dabei fand man, daß es besonders reich im Follikelsaft des reifen Follikels und in der Placenta enthalten ist.

Nachdem ASCHHEIM und ZONDEK (118) im Jahre 1927 eine besonders ergiebige Ausbeute an brunstaustösendem Hormon im Harn der schwangeren Frau entdeckten, konnte die Isolierung der natürlich vorkommenden Oestrogene und die Aufklärung ihrer Konstitution erfolgreich in Angriff genommen werden.

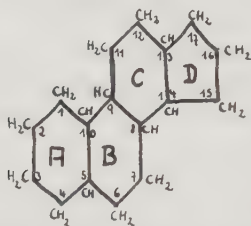
Im Jahre 1929 glückte BUTENANDT (19) in Göttingen, fast gleichzeitig DOISY (34) in USA und wenige Monate später LAQUEUR (68) in Amsterdam die reine Darstellung des kristallinen "Follikelhormons" aus dem Schwangerenharn. Die allgemeine Bezeichnung dafür ist heute Oestron. Daneben findet man immer noch die Namen Theelin, Menformon, Follikulin. Die chemische Struktur dieses Wirkstoffes konnte auch bald geklärt werden (15, 16, 112). Das Oestron leitet sich vom Oestran ab. Es weist eine Hydroxylgruppe an C₃, eine Ketogruppe an C₁₇ und eine Methylgruppe an C₁₃ auf.

Ein Jahr später isolierte G. F. MARRIAN (81), ebenfalls aus Schwangerenharn, eine weitere kristalline Substanz mit oestrogener Wirkung, das Oestriol oder Theelol. Auch seine chemische Struktur ist bekannt. Die Ketogruppe an C₁₇ ist hydriert, an C₁₆ enthält es noch eine OH-Gruppe, also insgesamt drei Hydroxylgruppen.

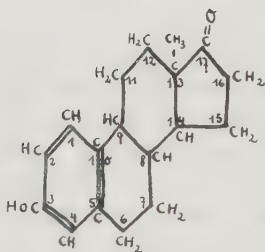
Durch Hydrierung der Ketogruppe des Oestrons konnte man zwei Isomere gewinnen, das α - und das β -Oestradiol. BUTENANDT (17) trennte sie durch fraktionierte Kristallisation. Dabei fand man, daß der Schmelzpunkt des α -Oestradiols zwischen 174 und 178° C, der des β -Isomeren bei 223° C liegt. (Zit. nach 3). Eine weitere stereochemische Unterscheidung dieser zwei Isomere wurde durch die Stellung der Hydroxylgruppen an C₁₇ in Bezug auf die Methylgruppe an C₁₃ getroffen. Das α -Oestradiol steht in cis-Konfiguration, das β -Oestradiol in trans-Form (46).

Nach der künstlichen Herstellung des Oestradiols wurde es auch in der Natur aufgefunden. DOISY (31, 32, 33) gelang die Isolierung des α -Oestradiols, WINTERSTEINER (113, 114, 115) die des α - und β -Isomeren (Zit. nach 3).

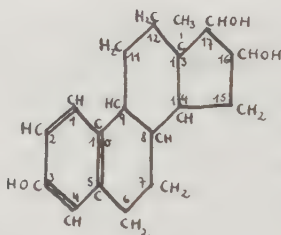
Allen drei Oestrogenen liegt das Steroidhormonskelett des Cyclopentano-perhydrophenanthren $\equiv C_{17}H_{28}$ zugrunde. Die Oestrogene sind gegenüber den anderen Steroiden durch einen aromatischen Ring ausgezeichnet, durch den verschiedene chemische Eigenschaften bedingt sind, die für ihre Erkennung und Bestimmung wichtig sind. Sie werden auch Phenolsteroiden genannt.



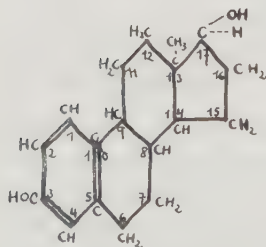
Cyclo-pentano-perhydro-phenanthren $= C_{17}H_{28}$



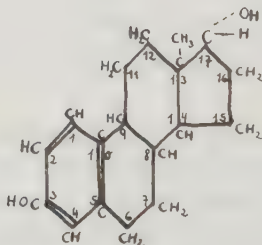
Oestron $= C_{18}H_{22}O_2$



Oestriol $= C_{18}H_{24}O_3$



α -Oestradiol $= C_{18}H_{24}O_2$
cis-Form



β -Oestradiol
trans-Form

Die natürlichen Oestrogene sind sowohl im weiblichen, als auch im männlichen Organismus zu finden. Ihre Bildung erfolgt während des ganzen Lebens, ist aber zur Zeit der Geschlechtsreife erhöht.

Im Ovar sind es vor allem die Granulosa- und Thekazellen des reifenden Follikels und das Corpus luteum in seiner vollen Funktion während der zweiten Hälfte des Zyklus und in den ersten vier Monaten der Schwangerschaft.

Große Mengen von Oestrogenen enthält der Trophoblast der Placenta. Weitere Bildungsstätten dieser Hormone sind die Testes und Nebennieren (37).

Im Tierreich findet man die Oestrogene bei allen Tierklassen, von den Wirbeltieren bis zu den Protozoen vor (90).

Selbst bei den Pflanzen scheinen sie weit verbreitet zu sein. LOEWE (73) wies die oestrogene Wirkung in Weidenkätzchen nach, BUTENANDT (18) isolierte aus Palmkernrückständen das Oestron. Man fand brunstauslösende Stoffe in vielen Keimlingen, Blüten und Früchten, in bituminösen Substanzen, Torf, Braun- und Steinkohle, sowie im Erdöl. Ihre Identität mit den tierischen Wirkstoffen ist jedoch nicht erwiesen (zit. nach 3).

Anhand von Tierexperimenten wurde zum ersten Mal die brunstauslösende Wirkung der oestrogenen Hormone studiert. Daher auch die Bezeichnung "Oestrogene". Man konnte bei diesen Versuchen die gleichen Erscheinungen der Brunst bei normalen geschlechtsreifen Tieren, wie auch bei kastrierten, senilen und selbst infantilen Tieren hervorrufen, wenn man ihnen Oestrogene verabreichte.

Als übergeordnetes Zentrum für die Hormonbildung im Ovarium ist die Hypophyse anzusehen, die gemeinsam mit dem Zwischenhirn das hormonale Geschehen im Körper steuert.

2. Wirkungen und Stoffwechsel der Oestrogene

Mit dem Beginn der Pubertät setzt eine allgemeine Umstimmung im weiblichen Organismus ein. Die Produktion der oestrogenen Hormone beeinflusst das Knochenwachstum und die Skelettreifung im Sinne einer schrittweise erfolgenden Schließung der Epiphysenfugen, die durch eine positive Kalziumbilanz hervorgerufen wird. Im übrigen zeigt sich im Stoffwechsel eine eiweißsparende und robrierende, sogenannte anabolische Wirkung, sowie ein kochsalz- und wasserretinierender Effekt. Der regulierende Einfluß wirkt sich auch auf die Niere und Blase aus, was besonders in der Schwangerschaft

bedeutsam wird. Außerdem schreibt man den Oestrogenen eine Konstanterhaltung des roten und weißen Blutbildes zu, die im Zusammenhang mit der positiven Gefäßwirkung - im Sinne der Dilatation - ein Gleichgewicht des ganzen Kreislaufs gewährleistet.

Die Oestrogene sind der weibliche Prägungsstoff. Sie halten die für die weibliche Psyche typische Einstellung zur Umwelt im Gleichgewicht und bewirken die Spezifität des weiblichen Geschlechtstriebes.

Im Körper der Frau fördern sie beim jungen Mädchen die Entwicklung der sekundären Geschlechtsmerkmale. Am weiblichen Zyklus beteiligen sie sich durch den Aufbau der Proliferationsphase im Uterus und durch die gemeinsame Wirksamkeit mit dem Progesteron während der Corpus-luteum-Phase. Damit im Zusammenhang steht die Anregung der Sekretion der Cervicaldrüsen, sowie die Proliferation des Vaginalepithels. Letzteres scheint besonders Aufgabe des Oestriols zu sein (s. u.). Am Uteruswachs- im während der Schwangerschaft sind alle drei Oestrogene beteiligt. Sie fördern auch das Wachstum des Drüsenanteils der Mamma, hemmen aber bis zur Geburt die Laktation (120, 121).

Die drei Oestrogene zeigen eine unterschiedliche Wirksamkeit und haben damit eine verschiedene biologische Bedeutung.

Von allen drei Oestrogenen ist das Oestradiol die weitaus wirksamste Substanz, etwa 8 - 10mal aktiver als das Oestron (79). Hier ist wiederum das β -Oestradiol das wirksamere Hormon, infolge seiner bestimmten räumlichen Anordnung der Moleküle. Den Oestradiolestern, vor allem dem Benzoessäure-ester, kommt eine protrahiertere Wirkung zu als der freien Verbindung. Sie werden langsamer resorbiert und haben somit eine intensivere Einwirkungskonstanz auf die Erfolgsorgane. Dadurch wird eine potenzierte Hormonwirkung erreicht (46).

Das Oestron zeigt eine ähnliche, allerdings schwächere Wirkung als das Oestradiol.

Kleine Mengen Oestriol reichen bereits aus, um die Cervixdrüsen zur Sekretion anzuregen, sowie eine Proliferation des Vaginalepithels zu bewirken. Das Oestriol scheint also die Veränderungen in der Cervix uteri und in der Vagina zu bewirken, während die Endometriumdrüsen nicht proliferieren. Ebenso ist PUCK (95) der Ansicht, daß das Auftreten größerer Mengen Oestriols im Harn vor Geburtsbeginn eine Bedeutung haben muß. Diese Wirkung kann z. B. darin bestehen, Cervix uteri, Vagina und Beckenring für die Geburt aufzulockern und weiter zu stellen.

Die Aktivität der Oestrogene wird in internationalen Einheiten (IE) gemessen. Es bedeutet zum Beispiel bei Oestron

1 IE = 0,0001 mg = 0,1 μ g des Standardpräparates.

Daneben besteht noch die internationale Oestradiolbenzoateinheit:

1 IBE = 0,0001 mg = 0,1 μ g des Oestradiolbenzoatpräparates, die aber nur für pharmazeutische Präparate verwendet wird.

Die biologische Maßeinheit lautet:

1 Mäuseeinheit (ME) und 1 Ratteneinheit (RE) = Minimalmenge an Oestrogenen, die bei kastrierten weiblichen Tieren zum reinen Schollenstadium der Vagina führt.

Die Wirksamkeit der einzelnen Oestrogene in Mäuseeinheiten ausgedrückt:

1000 μ g Oestriol	entsprechen	75 ME
1000 μ g Oestron	entsprechen	8000 ME
1000 μ g Oestradiol	entsprechen	75000 ME (46)

Unter den drei Oestrogenen spielt das biologisch aktivste Oestradiol mengenmäßig die geringste Rolle. Den größten Prozentsatz macht das nur wenig aktive Oestriol aus, während das Oestron eine Mittelstellung einnimmt (67).

Oestradiol stellt sicher den Ausgangsstoff der Oestrogene dar. Oestriol ist am ehesten ein definitives Endprodukt, wenn vielleicht auch nicht seiner ganzen Menge nach. Das Oestron kann demgegenüber endogen wieder in Oestradiol umgewandelt werden (90; 104). Diese Umsetzung gelang durch Reduktion mit Hilfe des Glucose-6-phosphat-Dehydrogenasesystems. Außer diesem System, das als H_2 -Donator bei der Reduktion dient, war die Gegenwart eines nicht näher definierten "gelben Fermentes" zur H_2 -Übertragung notwendig (79).

In den letzten Jahren wandte man Isotopen zum Studium des Oestrogenstoffwechsels an. HEUSGHEM (50) und VERLY berichten über die Einwirkung von Lebergewebe der Ratte und des Kaninchens auf den Abbau von $16-C^{14}$ -Oestron. Es erfolgte ein rascher Abbau des Oestrons unter Aufspaltung des 5er-Ringes. Dabei beobachtete man zum ersten Male eine Umsetzung phenolischer in neutrale Steroide. Außerdem ließen sich phenolische Steroide nachweisen, unter denen Oestradiol und Oestriol identifiziert wurden. Damit war der Beweis für die Umwandlung von Oestron zu Oestradiol in der Leber erbracht.

Andere Inkubationsversuche zeigten, daß die Hoden, Ovarien, Nebennieren, Placenta und Endometrium *in vitro* radioaktives Oestron in neutrale und saure Metabolite abbauen können; diese besitzen teilweise Ketoncharakter, teilweise aber auch nicht. Höchstwahrscheinlich handelt es sich bei diesen Stoffwechselprodukten um Steroide, womit die Umwandlung in Phenol-Steroide bewiesen wäre.

In weiteren Versuchen wurde männlichen Kaninchen C^{14} markiertes Oestron in kleinen Mengen i. v. injiziert. In kürzester Zeit war das verabreichte Oestron fast vollkommen aus dem Blut verschwunden. Es ließen sich jedoch eine Reihe radioaktiver Substanzen nachweisen, die zum Teil Steroidcharakter hatten, zum Teil wasserlöslich waren. In der Ätherfraktion fanden sich neutrale und saure, ketonische und nicht ketonische Verbindungen. Demnach erfolgt ein schneller und tiefgreifender Umbau des Oestronmoleküls. Die Bindung an Eiweiß erschien fraglich, da die Hydrolyse der Blutproteine nur eine sehr schwache ätherlösliche und radioaktive Fraktion ergab (50).

Die gegenseitige Umwandlung von Oestron und Oestradiol wurde in der durchströmten menschlichen Placenta beobachtet. Zu diesem Zweck ließ man eine Placenta mit C^{14} markiertem Oestron beziehungsweise Oestradiol durchströmen. Anschließend wurden Durchströmungsflüssigkeit und Placentargeewebe auf diese Verbindungen hin untersucht. War die Placenta 35 Minuten mit 17-Oestradiol-16- C^{14} durchströmt worden, so wurden 58 % in Oestron umgewandelt. Davon fand man 45 % in der Durchströmungsflüssigkeit und 13 % in der Placenta. Eine ähnliche Oestron-Oestradiol-Relation war zu sehen, wenn die Placenta mit Oestron-16- C^{14} durchströmt wurde. Eine Umwandlung in Oestriol ließ sich in keinem Fall beobachten (72).

Die Hydrolyse mit Enzymen ergab, daß sich Oestron vorwiegend an H_2SO_4 gekoppelt findet, Oestriol hauptsächlich als Glucuronid erscheint, während Oestradiol in beiden Formen auftritt. Im ganzen wird ein injiziertes Hormon sofort an die Gewebe weitergegeben, die es um- und abbauen. Die Abbauprodukte erscheinen rasch wieder im Blut und werden durch die Niere oder Galle ausgeschieden. Unter den mit der Galle ausgeschiedenen Steroiden konnten die Glucuron- und Schwefelsäureester von Oestriol und Oestradiol nachgewiesen werden, aber fast gar kein Oestron (50).

Eine gute Kenntnis besitzen wir bereits von der quantitativen Ausscheidung und von dem Verhalten der einzelnen Oestrogenfraktionen. Beide sind sie vom Funktionszustand und auch von individuellen Unterschieden abhängig.

Die Ausscheidung der Oestrogene erfolgt:

Durch den Harn,
durch die Fäkalien,
durch das Colostrum,
durch den Speichel.

Vermehrt werden die Oestrogene i. a. ausgeschieden bei

Überfunktion,
Granulosa - oder Thekazelltumoren der Ovarien,
Follikelpersistenzen,
feminisierenden Nebennierentumoren.

Vermindert sind die Oestrogene nachweisbar bei

Kastratinnen,
Frauen in der Menopause,
Ovarialinsuffizienzen.

Die Hauptausscheidung findet durch den Harn statt und zwar besonders in Form von wasserlöslichen Estern.

Die Inaktivierung der Oestrogene findet in der Leber statt. Man beobachtete, daß bei Leberschädigungen der Follikelhormonabbau ungenügend ist. Deshalb steigt die Oestrogenausscheidung im Urin an, wobei die ausgeschiedenen Hormone in freier Form vorkommen.

Über das Verhalten der drei Oestrogenfraktionen während des Menstruationszyklus und der Schwangerschaft wird im speziellen Teil berichtet. Es soll nur erwähnt werden, daß im Zyklus die Hormonwerte parallel je nach Zyklustag steigen und das Maximum der Oestrogenausscheidung zur Zeit der Ovulation vorhanden ist. Während der Schwangerschaft erfolgt ein steter Anstieg der Oestrogenwerte, wobei das Oestriol am stärksten beteiligt ist und das Oestron wiederum höher ausgeschieden wird als das Oestradiol (3).

II. METHODIK

1. Biologische Bestimmungsmethoden

Zum Nachweis der oestrogenen Hormone in Körperflüssigkeiten diene zuerst die Auswertung ihrer biologischen Wirkungen bei geeigneten Versuchstieren. Für männliche Wirkstoffe wurde zum Beispiel der Hahnenkammtest, der Vesikulardrüsentest und der Allen-Doisy-Test herangezogen (116).

Die Vorarbeit für den Allen-Doisy-Test leisteten PAPANICOLAOU (89) und STOCKARD (105), sowie EVANS (39) mit Versuchen am Meerschweinchen bzw. an der Ratte. Der Test beruht auf der Auslösung des Brunstzyklus am kastrierten weiblichen Nagetier. Der Eintritt der Vollbrunst äußert sich bei dieser Tierklasse durch eine charakteristische Verhornung des Scheidenepithels. Die zu prüfende Substanzmenge wird in 0,1 ccm Sesamöllösung kastrierten weiblichen Mäusen subcutan verabreicht. Der Eintritt der Vollbrunst nach 40 bis 80 Stunden äußert sich im histologischen Bild des Scheidenabstriches durch das vollständige Verschwinden von Leukozyten und Epithelzellen sowie durch das Auftreten von kernlosen Schollen.

Ein anderer biologischer Test beruht auf dem vorzeitigen Eintritt der Vaginalöffnung an infantilen Ratten bei der Behandlung mit Oestrogenen. 18 - 20 Tage alten Ratten wird der zu prüfende Wirkstoff über drei Tage subcutan injiziert. Als Einheit gilt die Substanzmenge, die innerhalb von 6 - 8 Tagen eine Öffnung der Vagina mit anschließender Vollbrunst hervorruft. In diesem Test ist Oestriol viel wirksamer als Oestron. Der Wert für Oestriol wird mit 4000 RE je mg und für Oestron mit 1000 RE je mg angegeben (36).

Zu erwähnen wäre noch der Test am Vogelgefieder, bei dem die Wirkung des Oestrone auf die Verweiblichung des Gefieders geeigneter Hühnerrassen zur Auswertung benutzt wird (87).

Neben diesen Verfahren spielt der Nachweis von Oestrogenen durch Bestimmung des Uterusgewichtes infantiler Mäuse nach Oestrogengaben eine Rolle (40; 41).

Die Resultate sind von der Applikation abhängig. Bei vaginaler Instillation werden bis zu zehnmal höhere Werte gefunden, als nach subcutaner Verabreichung. Die intraperitoneale Verabfolgung ergab bei einigen oestrogenen Stoffen sogar um viele Zehnerpotenzen höhere Werte gegenüber der subcutanen Injektion. Orale Gaben führten auch zu einer positiven Reaktion.

Durch Unterteilung der injizierten Dosen wurde der Wirkungswert erhöht und das Stadium der Vollbrunst verlängert.

Diese biologischen Versuche erfordern einen großen Aufwand an ausgesuchten Tieren. Sie sagen weiterhin nur über die biologische Aktivität, nicht aber über die genaue Quantität etwas aus.

2. Chemische Bestimmungsmethoden

Die chemische Bestimmung der Oestrogene hat die biologische heute fast vollständig verdrängt. In langwieriger Entwicklung wurden jetzt brauchbare Verfahren angegeben. Sie erfassen schon Mengen von wenigen μ .

Der chemischen Untersuchung geht zuerst eine Aufarbeitung der Harnproben mit dem Ziele der Anreicherung der Steroidhormone und Abtrennung von störenden Begleitstoffen voraus. Der Vorgang zeigt bei fast allen Methoden die gleiche Gliederung in Hydrolyse, Extraktion der Hormonfraktion, Reinigung des Extraktes, Fraktionierung und Messung der gewonnenen Substanzen. Die von COHEN und MARRIAN (24), SMITH, SMITH und SCHILLER (102), TALBOT, WOLFE, Mc. LACHLAN und BUTLER (107), LAWRENCE und WERTHESEN (69), STEVENSON und MARRIAN (103) u. a. beschriebenen Verfahren führten noch nicht zu einem befriedigenden Erfolg. Erst BACHMAN und PETTIT (7) gelang auf Grund verbesserter Fraktionsvorschriften eine Trennung in die Oestradiol/Oestron- und die Oestriolphase. Oestradiol und Oestron ließen sich sehr rasch mit Benzol oder Äther aus dem Harn extrahieren, während Oestriol in wässrigem Milieu besser löslich war. JAILER (52) baute dieses Verfahren für den klinischen Gebrauch aus. Eine verfeinerte Extraktionsmethode schlug KELLER (62) 1953 vor. Hierbei erfolgte nach vorausgegangener Säurehydrolyse, Ätherextraktion, Reinigung durch Verteilung in verschiedenen Lösungsmitteln die Trennung des rohen Phenolsteroidextraktes auf einer Al-Säule in die schwach phenolische Oestradiol/Oestron- und die stark phenolische Oestriolphase. BROWN (11) gelang schließlich die Auftrennung der Oestrogene in alle drei Fraktionen.

Ein schwieriges Problem stellte die Messung der gewonnenen Phenolsteroiden dar. Zunächst gab es keine Methode, die alle Verunreinigungen restlos beseitigen konnte, die störend auf die Colorimetrie einwirkten. Diese geht auf die Arbeiten von KOBER (65) zurück. Er erwärmte ein Gemisch von Hormon und Schwefelsäure und verdünnte mit Wasser. Dabei entstand eine rotgefärbte Lösung mit grüner Fluoreszenz. 1938 veröffentlichte KOBER (66) eine Verbesserung seiner Methode mittels Naphtolschwefelsäure, die eben-

falls eine rote Farbreaktion mit allen oestrogenen Stoffen ergab. KLEINER (64) empfahl eine Farbreaktion mit Phtalsäureanhydrid, mit deren Hilfe man noch 0,25 μ Oestron bestimmen kann.

PSCHYREMBEL (93) berichtete von einem neuen Verfahren zur getrennten Bestimmung der oestrogenen Hormone auf der Grundlage des Kober-Testes.

Empfindlicher als die Kober'sche Färbemethode waren dann die fluorimetrischen Bestimmungsmethoden, die JAILER (53), COHEN und BATES (25), FINKELSTEIN (42) beschrieben und bei denen die Fluoreszenz gemessen wurde. NORREEL und POLLES (86) bestimmten die Oestrogenmenge im 24-Stunden-Urin nach einer verbesserten Methode von COHEN und BATES (26). NAKAO (84) entwickelte eine mikrofluorimetrische Methode, mit der schon die getrennte Bestimmung der Oestrogene im Blut und Urin gelang. Die von VARANGOT und Mitarbeitern (109) angewandte fluorimetrische Bestimmung der Oestrogene im Blut erlaubte ebenfalls eine Trennung in die Oestradiol/Oestron- und die Oestriolphase.

1948 benützten FRIEDGOOD-GARST (45) und HAAGEN-SMITH (45) zum ersten Mal die Ultraviolett-Spektrophotometrie. Diese Methode beruht auf der Messung der Absorptionsdichte der zu untersuchenden Lösungen im Beckman-Quarz-Spektrophotometer. Für die färberische Präparation wurde eine konstante 70%ige Schwefelsäure angewandt. In Anlehnung an dieses Verfahren arbeiteten BREITNER und EICHSTÄDTER (9) eine neue Meßmethodik aus. Die rechnerische Auswertung der durch die spektralphotometrische Messung gewonnenen Extinktionskurven wurden nach der von ALLEN (1) angegebenen Formel (Faktor $F = Ex - \frac{Ea + Eb}{2}$) durchgeführt.

Ein weiteres Verfahren für die Bestimmung der Oestrogenkonzentration im Plasma beschrieben PREEDY und AITKEN (92).

Eine Methode zur chemischen Bestimmung von Oestradiol, Oestron und Oestriol im peripheren Blut der Frau gab PUCK an (94).

3. Angewandte Methode nach BROWN zur Trennung der drei Oestrogenfraktionen

Für die eigenen Untersuchungen kam die Methode von J. B. BROWN zur Anwendung. Er entwickelte die zur Zeit spezifischste Methode zur Oestrogenengewinnung im Harn, deren Hauptvorteil in der getrennten Bestimmung von Oestradiol, Oestron und Oestriol auch bei geringer Konzentration liegt. Wegen des erheblichen Zeitaufwandes kommt sie in erster Linie für wissenschaftliche Probleme in Frage.

Das Verfahren leitet sich von dem von CLAYTON (23) beschriebenen ab. In einem zusätzlichen Arbeitsgang wird der Reinigungsvorgang durch die Methylierung der Phenolfraktion verbessert. Die methylierten Oestrogene werden dann durch die Chromatographie mittels einer Aluminiumsäule voneinander getrennt. Ihre Bestimmung erfolgt auf colorimetrischem Wege mit einer verbesserten Kober-Farben-Reaktion. Störender "Background" wird nach der spektrophotometrischen Messung bei der Auswertung mit Hilfe der ALLEN'schen Korrekturformel beseitigt.

Bei der Durchführung der Versuche wurden die in dem Originaltext angegebenen Bedingungen eingehalten.

Zur Methodik sind folgende Chemikalien und Arbeitsgänge nötig:

Reagenzien:	HCl, 1,19 pro analysi
	Äther, pro analysi
	Na ₂ CO ₃ , pH 10,5
	NaOH, 8%ig
	NaHCO ₃ , 8%ig
	Äthanol, absolut
	Petroläther, pro analysi
	Benzol, pro analysi
	H ₃ BO ₃ , pro analysi
	NaOH, 1,6%ig
	NaOH, 20%ig
	Dimethylsulfat, pro analysi
	Perhydrol, pro analysi
	Al ₂ O ₃ , pro analysi
	Quinol
	H ₂ SO ₄

Arbeitsvorschrift und Erklärung der verschiedenen Arbeitsgänge

1. Hydrolyse und Extraktion

- a) 200 ml einer 24-Stunden-Urinmenge werden unter dem Refluxkondensator zum Kochen gebracht, dann mit 30 ml konzentrierter Salzsäure (11 N) versetzt und 60 Minuten lang weitergekocht. Anschließend erfolgt rasche Abkühlung.

Die in konjugierter Form ausgeschiedenen Steroide werden durch die Säurehydrolyse aus ihren Verbindungen in Freiheit gesetzt. Der Refluxkondensator verhindert den Substanzverlust beim Kochen bzw. Verdampfen und erhält den Säure-pH-Wert während der Hydrolyse aufrecht.

- b) Der abgekühlte, hydrolysierte Urin wird 1x mit 200 ml und anschließend mit 2x 100 ml Äther nach dem 3-Scheidetrichtersystem extrahiert. Die saure Fraktion wird durch Waschen des Äthers mit einer gesättigten Na_2CO_3 -Lösung (80 ml) von pH 10,5 entfernt. Den Ätherextrakt schüttelt man mit 20 ml NaOH (8%ig) kräftig durch. Die NaOH-Schicht, die auch einige Oestrogene enthält, wird mit 80 ml 8%iger gesättigter NaHCO_3 -Lösung teilweise neutralisiert, so daß die Karbonationenkonzentration zunimmt, und noch einmal mit dem Ätherextrakt ausgeschüttelt. Auf diese Weise gelangen die Oestrogene in den Äther zurück, die störenden Substanzen bleiben in der wässrigen Schicht, die verworfen wird. Nun wäscht man den Äther mit 20 ml 8%iger gesättigter NaHCO_3 -Lösung, um ein etwa noch alkalisches Milieu zu neutralisieren. Damit soll ein allzu großer Oestriolverlust bei der anschließenden Reinigung des Ätherextraktes mit aqua dest., das die Bikarbonatreste beseitigt, verhindert werden.

2. Extraktion der Phenolfraction und Methylierung

- a) Der Ätherextrakt wird in einem 500 ml Kolben bis zur Trockne eingedampft. Den Rückstand löst man sofort in 1 ml Äthanol, um Oestriol, das in Benzol nicht leicht löslich ist, aufzulösen und kühlt den Kolben ab. Sein Inhalt wird dann mit 25 ml Benzol in einen Scheidetrichter gebracht, der bereits 25 ml Leichtpetroleum enthält. Das Benzol-Leichtpetroleumgemisch extrahiert man mit:

- a) 2 x 25 ml aqua dest.

- b) 2 x 25 ml 1,6%iger NaOH

- a₁) Der Wassereextrakt enthält das gesamte Oestriol und kommt in einen verschlossenen
100 ml Kolben mit 0,9 g H_3BO_3 + 4 ml 20%iger NaOH.
- b₁) Der NaOH-Extrakt, der das Oestron-Oestradiol enthält, kommt ebenfalls in einen
100 ml Kolben mit nur 0,9 g H_3BO_3 .
- b) Beide Behälter werden in einem Wasserbad auf 37°C erwärmt. Danach fügt man den Gemischen je 1 ml Dimethylsulfat bei, schüttelt kräftig durch und stellt sie erneut 10 - 30 Minuten lang ins Wasserbad. Der Vorgang wird nach Zugabe eines weiteren ml Dimethylsulfat wiederholt. Dieses ersetzt das erste bereits neutralisierte Dimethylsulfat. Nach weiteren 30 Minuten ist die Methylierung beendet.

Die Methylierung der Phenolgruppen stellt eine ausgezeichnete Methode dar, um eine spezifische Trennung der wahren Phenole von nicht phenolischem Material zu erreichen. Dadurch ändert sich auch die Löslichkeit, was eine Trennung der Oestrogenmethyläther von nicht phenolischen Beimengungen ermöglicht. Die Methylierung erfolgt wirksam in alkalischem Milieu bei Anwesenheit von Dimethylsulfat- H_3BO_3 -Pufferlösung (pH zwischen 10 und 11,5). Die Reaktion soll langsam bei 37°C ablaufen.

3. Entfernung der störenden Substanzen durch Oxydation und Extraktion der methylierten Oestrogene.

- a) Jedem Kolben sind zuzugeben:
10 ml 20%ige NaOH
2,5 ml 30%iges H_2O_2

Das konzentrierte Peroxyd in alkalischer Lösung bei Raumtemperatur stellt das beste Oxydationsreagenz dar, um die auf dieser Stufe vorhandenen Verunreinigungen der methylierten Phenolfraction zu alkalisch-löslichen Produkten zu oxydieren und damit zu entfernen.

- b) Die methylierte Oestriolfraction wird mit
25 ml Benzol,
die methylierte Oestron-Oestradiolfraction mit
25 ml Leichtpetroleum
in Scheidetrichtern extrahiert, nachdem die Lösungsmittel zuerst dazu benutzt werden, die entsprechenden Methylierungsbehälter zu spülen.

Die Benzol-Leichtpetroleumsextrakte werden

2 x mit 5 ml aqua dest.

gewaschen und das Wasser möglichst vollständig abgelassen. Die beträchtliche Reinigung der Oestrogenextrakte, die man durch den Methylierungsvorgang erreicht, erkennt man daran, daß die Benzol- und Leichtpetroleumphase fast farblos sind und sich alle sichtbaren Pigmente in der wässerigen Schicht befinden.

4. Chromatographie

Sie führt zu einer Aufteilung in die drei Oestrogenfraktionen:

In das "stark phenolische" Oestriol und das "schwach phenolische" Oestron und Oestradiol. Neben dieser Trennung beseitigt die Chromatographie weitere Urochrome, die im Rohextrakt noch vorhanden sind.

Bei der chromatographischen Trennung werden standardisierte Glasröhren verwendet, die mit einer Alaunerdesäule gefüllt sind. Die Säule ist folgendermaßen aufgebaut:

Zunächst eine Watteschicht unten in der Chromatogrammtube, dann 2 g Aluminiumoxyd, das mit drei Tropfen aqua dest. passend aktiviert wird. Zuletzt ungefähr 1 ccm in Essig-Äthanol gewaschenen Sand, der zum Schutze der Säule bei der Zugabe von Lösungsmitteln dient.

Die methylierte, im Benzol gelöste Oestriolfraction durchläuft nun die ebenfalls mit Benzol präparierte Alaunerdesäule. Danach wird die Säule gewaschen mit:

- a) 12 ml eines Gemisches von 1,4 % Äthanol in Benzol. Die durchgelaufene Flüssigkeit entfernt Urinfarbstoffe und wird verworfen.
- b) 15 ml eines Gemisches von 2,5 % Äthanol in Benzol. Die passierte Lösung enthält den gesamten Oestriol-Methyläther, der gesammelt wird.

Die methylierte Oestron-Oestradiolfraction im Leichtpetroleum gießt man nun durch eine zweite Alaunerdesäule, die in Leichtpetroleum präpariert wird. Diese Säule reinigt man mit:

- a) 12 ml eines Gemisches von 12 % Benzol in Leichtpetroleum, das anschließend verworfen wird.
- b) 15 ml eines Gemisches von 40 % Benzol in Leichtpetroleum.
- c) Weiteren 12 ml desselben Gemisches.

Diese Lösung mit dem ganzen Oestronmethyläther wird sorgfältig aufgefangen.

d) 12 ml Benzol.

Damit löst man den gesamten Oestradiolmethyläther heraus.

5. Verdampfung der Lösungsmittel

Den drei Oestrogenfraktionen werden Quinol (4 mg) in Äthanollösung (0,2 ml von 2 % w/v) und ein kleines Stück porösen Ziegels zugefügt. Die Lösungsmittel destilliert man ab und trocknet den Rückstand am Vakuum.

Drei Behälter, die nur Quinol enthalten, werden in gleicher Weise präpariert und dienen später als Vergleichsreagenzien.

Schematische Darstellung des BROWN'schen Verfahrens zur Bestimmung von Oestrogenen.

Hydrolyse des Urins mit HCl

Ätherextraktion

Ätherextrakt

Waschung: 1. Gesättigte Na_2CO_3 -Lösung (pH 10,5)

2. NaOH

3. NaHCO_3

4. Aqua dest.

Verdampfung des Äthers

Lösung des Satzes mit Äthanol

Zugabe von Benzol und Leichtpetroleum (in gl. Mengen)

Wasserextraktion

Benzol-Leichtpetroleum

Extraktion
mit NaOH

NaOH-Extrakt (Oestron-Oestradiol)

Zugabe von H_3BO_3

Methylierung mit Dimethylsulfat
bei 37°C

Zugabe von NaOH + H_2O_2

Extraktion mit
Leichtpetroleum

Waschung des Leichtpetroleum-
extraktes mit aqua dest.

Chromatographie
auf einer Al-Säule

Oestron-
Methyläther

Oestradiol-
Methyläther

Wasserextrakt (Oestriol)

Zugabe von H_3BO_3 + NaOH

Methylierung mit Dimethyl-
sulfat bei 37°C

Zugabe von NaOH + H_2O_2

Extraktion
mit Benzol

Waschung des Benzolextrak-
tes mit aqua dest.

Chromatographie
auf einer Al-Säule

Oestriol-Methyläther

Bei der Durchführung der Analysen mußte sehr exakt gearbeitet werden. Es wurden nur einwandfrei reine und trockene Ganzglasapparaturen verwandt, deren Innenfläche nicht betastet werden durfte. Wichtig waren gut eingeschliffene Glashähne, da die Verwendung von Hahnfett nicht erlaubt war.

Die Reagenzien waren pro analysi. Die gesättigten Lösungen bereiteten wir mit aqua dest. zu.

Eine einzelne Bestimmung erforderte ohne Messung einen Arbeitsaufwand von etwa 12 Stunden. Durch rationelles Arbeiten bei mehreren nebeneinander laufenden Untersuchungen konnte jedoch relativ Zeit eingespart werden.

6. Die quantitative Erfassung der Oestrogene

- a) Färbung: Bei der Färbung werden zunächst die kristallisierten Oestrogene sowie die Testreagenzien mit 3 ml eines jeweilig entsprechenden Quinol- H_2SO_4 -Reagenz in Lösung gebracht und danach 20 Minuten lang im kochenden Wasserbad erhitzt. Nach der raschen Abkühlung werden dem

76%igen Quinol- H_2SO_4 -Reagenz	$\frac{+}{-}$ Oestriol	1 ml aqua dest.,
66%igen Quinol- H_2SO_4 -Reagenz	$\frac{+}{-}$ Oestron	0,5 ml aqua dest.,
60%igen Quinol- H_2SO_4 -Reagenz	$\frac{+}{-}$ Oestradiol	0,2 ml aqua dest.

beigefügt. Die Gefäße kommen für weitere 10 Minuten ins siedende Wasserbad. Um den Färbevorgang zu unterbrechen, muß wieder schnell abgekühlt werden.

Der bei der Zugabe von Schwefelsäure entstehende gelbe, leicht fluoreszierende Farbkomplex ist in seiner Intensität von der Hormonkonzentration und den enthaltenen Verunreinigungen abhängig. Das Testreagenz ist dagegen nur ganz leicht getönt.

- b) Messung: Die Messung der gewonnenen Oestrogene wurde mit dem Beckman-Quarz-Spektralphotometer durchgeführt, Modell DU. Diesem Photometer liegt folgendes Prinzip zugrunde:

Ein Hohlspiegelsystem ist so angeordnet, daß ein von einer Lichtquelle kommendes Strahlenbündel auf das Littrow'sche Prisma trifft. Hier wird es in seine einzelnen Spektralbereiche zerlegt und wieder reflektiert. Bei einer besonderen Einstellung des Prismas kann man den Lichtanteil einer gewissen Wellenlänge ausblenden, ihn durch die zu messende Lösung schicken und auf eine Photozelle treffen lassen. Die Belichtungsintensität der

Photozelle ist von der Absorption bzw. optischen Dichte der zu untersuchenden Substanz abhängig. Die in der Photozelle entstehenden Potentialdifferenzen, die durch die wechselnde Beleuchtung bei verschiedenen Wellenlängen verursacht werden, sind an einem Widerstand auszugleichen. Die Werte kann man an einer Skala ablesen.

Hormon- und Vergleichslösungen werden in Cuvetten von 1 x 1 x 4 cm Inhalt abgefüllt und in die Meßkassette des Beckman-Apparates eingeschoben. Zunächst wird der Strahlengang durch die Vergleichslösung gelenkt und die Extinktion zum Nullwert justiert. Darauf wird die dunklere Hormonlösung dem Strahlengang von 480 m μ ausgesetzt. Der jetzt auftretende Wert wird notiert, da er die Differenz der Extinktion zum Testreagenz darstellt. Die anschließenden Messungen werden in der gleichen Weise ausgeführt.

Die Oestriol- und Oestronfraktion werden bei folgenden Wellenlängen gemessen:

480 m μ	516 m μ	552 m μ
-------------	-------------	-------------

Die Oestradiolfraction:

480 m μ	518 m μ	556 m μ
-------------	-------------	-------------

- c) Die Auswertung der Extinktionswerte: Da der Färbvorgang durch die störenden, nicht eliminierbaren chromogenen Substanzen des Harns und durch das oxydierende Quinol beeinflusst wird und damit auch die gewonnenen Werte der optischen Dichte verändert sind, muß eine Korrektur vorgenommen werden. Dies geschieht mit Hilfe der bekannten Allen'schen Formel.

Die korrigierte Lesart heißt bei Oestriol und Oestron:

$$2 \left[D_{516} - (D_{480} + D_{552}) \right]$$

Sie lautet für Oestradiol:

$$2 \left[D_{518} - (D_{480} + D_{556}) \right]$$

D = optische Dichte.

Man setzt also die bei den entsprechenden Wellenlängen gewonnenen Werte in diese Formeln ein und berechnet die Extinktion.

Die Menge an Oestrogenmethyläthern findet man nach Eintragung der

korrigierten Werte auf eine besondere Standardkurve, die mit reinem Oestrogenmethyläther festgelegt wurde. Die abgelesenen Werte werden dann auf die 24-Stunden-Urinausscheidung umgerechnet.

Fehlerquellen

Bei derartigen spezifischen Verfahren mit vielen Arbeitsgängen müssen die angegebenen Reagenzienmengen und Temperaturen genauestens eingehalten werden.

Für die Untersuchungen ist weiterhin das genaue Sammeln des 24-Stunden-Urins wichtig.

Störenden Einfluß auf die Farbentwicklung und Colorimetrie üben die Stoffwechselprodukte von Arzneimitteln aus, die während der Bestimmungen deshalb nicht verabreicht werden dürfen.

Große Mengen von Schleimstoffen erschweren die Durchführung der Untersuchung und verursachen auch einen zusätzlichen Hormonverlust.

Die Bestimmung der Extinktionswerte muß bald nach dem Färben erfolgen, weil die Testlösungen relativ rasch eine dunklere Tönung annehmen, was zu ungenauen Ergebnissen führt.

Beim Abdestillieren von Ätherextrakten und ähnlichem ist darauf zu achten, daß nur zwei Tropfen pro Sekunde überdestillieren, da sonst die Hormone mitgerissen werden könnten.

Recoveries

Die angestellten Wiedergewinnungsversuche gaben Aufschluß über die Verlustquoten an Oestrogenen, die bei der Hydrolyse, Extraktion, Reinigung und den colorimetrischen Vorgängen auftraten.

Zunächst wurde in einem hormonarmen Urin der Hormonausgangswert mittels des Brown'schen Verfahrens ermittelt. In einem Parallelversuch erfolgte die Hydrolyse einer Probe des gleichen Harns. Nach diesem Vorgang wurden bekannte Mengen von einer Reinhormonlösung zugesetzt und die Bestimmung in der angegebenen Weise durchgeführt.

Aus der sich nach der Umrechnung ergebenden Differenz konnten Arbeitsverluste festgestellt werden, die aus folgender Tabelle ersichtlich sind.

	Zugegebenes Reinhormon in γ	Wiedergewonnene Menge in γ	Verluste in %
Oestriol	130	107	17,69
Oestron	64,5	58,4	9,46
Oestradiol	111,5	84	24,66

III. SPEZIELLER TEIL

Die Oestrogenausscheidung im Zyklus

Bevor auf die eigenen Ergebnisse eingegangen wird, sollen die bisher publizierten Ergebnisse über die Oestrogenausscheidung im Urin während des Zyklus wiedergegeben werden.

Viele Autoren fanden nach der mit dem Allen-Doisy-Test angegebenen Methode eine oestrogene Aktivität mit Höchstwerten von mehreren Hundert Mäuseeinheiten (100, 43, 77, 4, 30, 111, 86, u. a.) bzw. Ratteneinheiten je Tag (101, 48, 70, u. a.).

Mit Hilfe der fluorimetrischen und spektrophotometrischen Bestimmungsverfahren erfaßten verschiedene Autoren folgende Mengen im 24-Stunden-Urin: Für die Oestradiol-Oestronfraktion zwischen 5 und 80 γ täglich (51, 47, 53, 8), für die Oestronausscheidung allein 5 bis 45 γ (82). Für die gesamten Phenolsteroiden zwischen 10 und 36 γ : TOMPSETT (108), zwischen 30 und 180 γ : JAYLE (54), zwischen 50 und 400 γ : KELLER (62). SMITH, SMITH und SCHILLER (102) errechneten den prozentualen Anteil, den die einzelnen Oestrogenfraktionen an der gesamten Oestrogenausscheidung annehmen und fanden im ersten Zyklusdrittel 60 % Oestradiol, 5 % Oestron und 35 % Oestriol; im zweiten Zyklusdrittel 33 % Oestradiol, 20 % Oestron und 40 % Oestriol. KAISER und EICHSTÄDTER (59) berichteten über Oestriolwerte bis zu 90 γ . Neuerdings gewannen die Ergebnisse von BROWN (12) über alle drei Oestrogenfraktionen besondere Bedeutung. Die von ihm ermittelten Zykluswerte erreichen in der frühen Sekretionsphase mit 30 γ Oestriol, 20 γ Oestron und 8 γ Oestradiol/24-Stunden-Urin ihr Maximum, um vor der Menstruation wieder abzufallen.

Die Oestrogenbestimmungen im Blute führten bisher zu keinen befriedigenden Ergebnissen. PUCK (94) fand im peripheren Blut der Frau 0,075 bis 0,4 γ

pro ccm Plasma Oestriol.

PREEDY (92) gibt Höchstwerte in der Corpus-luteum-Phase von 0,2 μ Oestron; 0,07 μ Oestradiol und 0,29 μ Oestriol/100 ccm Plasma an. VARANGOT (109) bestimmte die Oestrogene im Blut fluorimetrisch und fand, daß die durchschnittlichen Werte in der Lutealphase für die Oestradiol/Oestronfraktion ca 7 μ /10 ccm, für Oestriol ca. 0,7 μ /10 ccm betragen.

Fast alle Autoren stimmen darin überein, daß die oestrogenen Hormone im heranreifenden Follikel im Anschluß an die Menstruationsblutung in zunehmender Menge produziert werden. Nachdem es zur Zeit der Ovulation zu einer vorübergehenden Verminderung der Oestrogene kommt, erfolgt einige Tage später ein zweiter Anstieg, der ungefähr mit dem Gipfel der Progesteronbildung zusammenfällt, die von der Ovulation an steil ansteigt.

Kurz vor Beginn der Blutung fällt die Ausscheidung beider Hormone stark ab, wodurch es zu einer praemenstruellen Schrumpfung der Gebärmutter Schleimhaut und zur Auslösung der Menstruation selbst kommt.

Eigene Untersuchungen über die Oestrogenausscheidung im Zyklus

A. Normale Zyklen

Für unsere Zyklusuntersuchungen wurden drei normal menstruierende junge Frauen herangezogen.

Außer der Oestrogenbestimmung erfolgte auch eine Registrierung der Basaltemperaturen, sowie der 24-Stunden-Urinmenge; die Ergebnisse sind in den Tabellen und Abbildungen wiedergegeben.

I. Zyklus

24jährige Medizinstudentin, O-para. Menarche mit 14 Jahren. Zyklus $\frac{28}{4}$ Tage.

Das Oestradiol steigt langsam bis zur praeovulatorischen Phase an und erreicht nach einem mäßigen Abfall am 25. Tag den Höchstwert mit 20,56 μ .

Beim Oestron sind zwei Spitzen zu erkennen: Eine wieder vor der Ovulation mit 38,31 μ , die andere, höhere am 24. Tag mit 68,44 μ .

Das Oestriol zeigt zunächst eher ein Absinken bis zum 14. Tag und anschließend vom Zeitpunkt der Ovulation ab einen Anstieg mit einem Höhepunkt (53,39) am 24. Tag. Die praemenstruellen Werte sind relativ hoch.

Alle drei Oestrogene haben gemeinsam ihr Maximum am 24./25. Tag erreicht; der erste Gipfel liegt bei Oestradiol und Oestron unmittelbar vor und der von Oestriol etwa während der Ovulation.

II. Zyklus

34 jährige III-para. Menarche mit 13 Jahren. Zyklus $\frac{26 - 29}{4}$ Tage.

Der Höchstpunkt des Oestradiols mit 80,78 μ fiel auf den 11. Tag, also in die praeovulatorische Phase, um anschließend bis zur Periode stark abzufallen.

Das Oestron steigt bis zum Ovulationstermin an mit einer Spitze (49,25 μ) am 14. Tag. Postovulatorisch liegen die Gipfel am 20. Tag (41,62 μ) und am 27. Tag (42,68 μ).

Das Oestriol weist einen Gipfel (51,19 μ) während und einen nach der Ovulation mit einem Maximum (66,31 μ) am 18. Tag auf und sinkt dann ab.

III. Zyklus

21jährige Krankenschwester, O-para, Menarche mit 13 Jahren, Zyklus $\frac{28}{4-5}$ Tage.

Bemerkenswert ist hier die Oestradiolausscheidung. Während die vorangegangenen Werte, abgesehen vom 7. Zyklustag, recht gering waren, zeigt plötzlich der 18. Tag einen maximalen Gipfel mit 161,12 μ .

Das Oestron erreicht nach einem Anstieg bis zum 9. Tag und anschließend dem Abfall seinen ersten Spitzenwert am 18. Tag (46,66 μ) zusammen mit Oestradiol, den zweiten am 25. Tag (62,06 μ) zusammen mit Oestriol.

Das Oestriol, das seinen ersten Gipfel am 11. Tag (49,42 μ) aufweist, sinkt dann wieder ab und erreicht einen zweiten Höhepunkt mit 42,83 μ am 25. Tag.

Tabelle 1: Normaler Zyklus I

Tag des Zyklus	Harnmenge von 24 Std. in ccm	Gesamtausscheidung in 24 Std.			Basal- tempe- ratur
		Oestriol μ	Oestron μ	Oestradiol μ	
5.	980	25,95	18,66	3,05	36,4
6.	600	5,22	7,88	5,98	36,4
8.	580	18,50	13,96	6,14	36,4
9.	500	12,94	15,74	6,49	36,4
11.	735	19,90	20,12	11,45	36,2
12.	755	10,58	21,70	-	36,4
13.	700	5,35	38,31	18,70	36,2
14.	570	-	18,72	11,36	36,5
15.	875	35,01	23,47	12,54	36,5
17.	780	30,06	18,57	-	36,8
18.	1105	25,36	23,09	6,20	36,9
19.	620	27,36	33,93	15,07	36,9
20.	845	3,97	24,04	13,17	36,9
22.	680	28,01	32,37	-	36,9
24.	1525	53,39	68,44	18,92	36,9
25.	600	42,36	17,73	20,56	36,8
26.	530	27,13	46,41	3,64	36,8

Tabelle 2: Normaler Zyklus II

Tag des Zyklus	Harnmenge von 24 Std. in ccm	Gesamtausscheidung in 24 Std.			Basal- tempe- ratur
		Oestriol μ	Oestron μ	Oestradiol μ	
7.	410	18,57	15,48	33,22	36,6
8.	450	14,04	22,78	9,25	36,6
9.	500	20,14	22,43	2,18	36,6
11.	810	36,46	26,14	80,78	36,7
12.	510	25,80	36,28	20,98	36,7
13.	460	28,15	44,05	14,34	36,7
14.	600	51,19	49,25	20,19	36,8
15.	750	51,19	19,09	-	36,9
16.	455	34,00	29,39	3,55	37,0
18.	1150	66,31	37,76	13,63	37,0
19.	950	23,47	30,68	1,19	37,0
20.	650	23,47	41,62	3,65	37,0
21.	510	3,44	20,93	-	37,0
22.	650	24,47	20,98	4,45	37,0
23.	450	-	18,96	-	36,9
25.	900	29,65	23,15	-	36,9
26.	700	15,24	16,85	-	36,8
27.	600	21,53	42,68	4,86	36,8
28.	450	13,24	5,41	0,85	36,7

B. Pathologische Zyklen

I. Verkürzter Zyklus bei Corpus luteum abortivum

20jährige Hebammenschülerin, O-para. Menarche mit 18 Jahren.

Zyklus sonst $\frac{28}{5}$ Tage, beschwerdefrei.

Das Oestradiol sinkt zunächst ab, um plötzlich am 11. Tag einen Höchstwert mit 74,79 γ erkennen zu lassen. Nach einem starken Abfall am 13. Tag steigen die Oestradiolwerte bis zum 17. Tag wieder an.

Beim Oestron ist am Anfang ebenfalls ein Absinken der Werte zu beobachten. Der erste Gipfel trifft auf den 11. Tag mit 33,82 γ , der zweite auf den 15. Tag mit 45,97 γ . Danach fällt das Oestron erneut ab.

Auch das Oestriol zeigt zuerst ein Abfallen seiner Werte. Am 11. Tag ist eine Spitze mit 23,65 γ , am 18. Tag mit 28,32 γ erreicht. In der Zwischenzeit erfolgt nur eine geringe Oestriolausscheidung.

Am 20. Tag p. m. trat ein vorzeitiger Abbruch der Corpus luteum-Phase ein. Ursächlich spielte vermutlich ein um diese Zeit auftretender fieberhafter Infekt eine Rolle.

Tabelle 3 : Normaler Zyklus III

Tag des Zyklus	Harnmenge von 24 Std. in ccm	Gesamtausscheidung in 24 Std.			Basal- tempe- ratur
		Oestriol γ	Oestron γ	Oestradiol γ	
4.	700	9,06	4,59	-	36,6
5.	900	19,59	15,76	-	36,6
7.	850	13,53	20,46	26,34	36,4
9.	760	33,54	31,61	16,10	36,4
11.	600	49,42	17,40	-	36,4
14.	550	13,92	20,46	-	36,5
16.	450	5,96	16,99	-	36,7
18.	550	5,17	46,66	161,12	36,9
21.	900	10,86	24,62	-	37,0
23.	1000	20,59	0,82	68,56	36,9
25.	1400	42,83	62,06	3,49	37,0
28.	800	39,07	15,32	-	36,9

Tabelle 4: I. Verkürzter Zyklus

Tag des Zyklus	Harnmenge von 24 Std. in ccm	Gesamtausscheidung in 24 Std.			Basaltemperatur
		Oestriol μ	Oestron μ	Oestradiol μ	
7.	610	15,44	16,69	17,90	36,7
9.	740	13,06	13,77	12,91	36,6
11.	600	23,65	33,82	74,79	36,8
13.	660	5,04	23,11	7,40	36,7
15.	700	-	45,97	17,88	36,8
17.	1000	12,94	24,08	32,41	36,9
18.	830	28,32	20,89	6,73	37,4

II. Pathologischer ovulatorischer Zyklus

Amb. 5639/57

Op. Journal Nr. 39/58

Primäre Ehesterilität - Pertubatio positiv.

Frau S., 26 Jahre. Zyklus $\frac{28}{3}$ Tage. L. P.: 23.12.1957

Strichcurette:

Endometrium $\left\{ \begin{array}{l} 16. \text{ Zyklustag: Proliferation ohne Sekretion,} \\ \text{entspricht nicht dem 16. Zyklustag.} \\ 22. \text{ Zyklustag: Unregelmäßig sezernierend mit stärkerer} \\ \text{Erweiterung der Drüsenschläuche und Auf-} \\ \text{lockerung des Stromas. Blutungen und Ödem} \\ \text{im Stroma.} \end{array} \right.$

Praep. Nr. 2582/57

Dem ersten Anstieg des Oestradiols mit einem Gipfel am 21. Zyklustag (16,52 μ) folgt anschließend ein zweiter, allerdings geringerer.

Das Oestron läßt erst einen Abfall erkennen und am 22. Tag ein Maximum

von 68,95 γ . Danach fällt es wieder ab.

Das Oestriol weist eine Spitze mit 36,36 γ am 20. Tag auf, sinkt dann auf 1,37 γ ab und erreicht am 22. Tag einen neuen Gipfel mit 37,60 γ , dem wieder ein Abfall folgt.

III. Pathologischer ovulatorischer Zyklus

Amb. 3731/57

Op. Journal Nr. 41/58

Primäre Ehesterilität - Pertubatio positiv.

Frau B., 34 Jahre. Zyklus $\frac{25-27}{6}$ Tage, Dysmenorrhoe. L. P.: 29.12.1957

Strichcurette:

Endometrium		11. Zyklustag: Mangelhafte Proliferation, etwas Ödem im Stroma.
		14. Zyklustag: Ödem deutlich, Proliferation entspricht dem Beginn der ersten Hälfte, fast funktionslos. Zum Teil mit Erythrozyten durchsetzt.

Praep. Nr. 35/58

69/58

Das Oestradiol zeigt bei relativ niedrigen Werten von 6 - 7 γ einen langsamen Anstieg zur Zeit des Follikelsprunges.

Das Oestron imponiert mit einem Höchstwert von 77,99 γ am 14. Tag. Die folgenden Werte sinken auf etwa 19 γ herab, steigen dabei aber geringgradig an.

Tabelle 5: II. Pathologischer Zyklus

Tag des Zyklus	Harnmenge von 24 Std. in ccm	Gesamtausscheidung in 24 Std.			Basal- tempe- ratur
		Oestriol μ	Oestron μ	Oestradiol μ	
20.	1020	36,36	48,00	8,26	36,9
21.	780	1,37	28,60	16,52	37,4
22.	900	37,60	68,95	5,04	37,0
23.	410	14,47	21,32	7,92	37,1

Tabelle 6: III. Pathologischer Zyklus

Tag des Zyklus	Harnmenge von 24 Std. in ccm	Gesamtausscheidung in 24 Std.			Basal- tempe- ratur
		Oestriol μ	Oestron μ	Oestradiol μ	
14.	750	11,92	77,99	4,22	36,6
15.	450	16,68	17,49	6,73	36,6
16.	700	11,53	19,73	7,85	36,9
17.	750	9,70	20,93	7,01	36,9

Beim Oestriol ist ein praeovulatorischer Anstieg mit einem Gipfel von 16,68 μ am 15. Tag und anschließender Abfall zu beobachten.

Die Oestrogenausscheidung in der Schwangerschaft

Im Verlaufe der Schwangerschaft ergaben biologische Bestimmungen der Oestrogenaktivität im Harn Werte von wenigen Tausend ME bis zu etwa 100 000 ME je Tag (117, 97, 83, 49, 86, 6, 110, 85 u. a.). SMITH und SMITH (102) fanden bei ihren Untersuchungen eine zunehmende Konzentration für Oestradiol von 20 - 100 μ , für Oestron von 33 - 890 μ und für Oestriol von 500 - 30 000 μ im 24-Stunden-Harn von Schwangeren. TOMPSETT (108) gab die Gesamtausscheidung der Oestrogene bei der Schwangeren mit maximal 20 000 μ an. Die Resultate von EICHENBERGER und HOFMANN (38) lassen ein weitgehend paralleles Verhalten des Titors der einzelnen Oestrogenfraktionen während der Schwangerschaft erkennen. Beim Oestriol betragen die Ausscheidungsmengen durchschnittlich das zehnfache gegenüber der zusammengefaßten Oestradiol-Oestronfraktion. Beide Fraktionen zeigten vom 3. - 10. Monat an einen Anstieg um ca. das fünffache (Oestriol etwa 2 000 - 10 000 μ , Oestradiol/Oestron ungefähr 200 - 1 000 μ). Ein Jahr später gab KELLER (62) ähnliche Werte an. 1954 berichtete BREITNER (8), daß er bei der spektrophotometrischen Methode auch ein ziemlich konstantes Verhältnis von 1:10 zwischen der Oestradiol/Oestron- und der Oestriolkonzentration am Ende der Schwangerschaft fand.

In den ersten Monaten der Gravidität betragen seine Oestradiol/Oestronwerte 40 - 250 μ , im 4. Monat bis zu 400 μ und ab 6. Monat bis zu 2 000 μ . BROWN (12), der wiederum alle drei Oestrogenfraktionen gesondert prüfte, fand um die 7. Schwangerschaftswoche:

50 μ Oestradiol
100 μ Oestron
200 μ Oestriol.

Bis zum Partus erfolgte dann eine kontinuierliche Zunahme der Werte bis auf ca.:

0,6 mg Oestradiol
1 - 2 mg Oestron
20 - 40 mg Oestriol (12).

Auch in der Placenta steigt die Konzentration der Oestrogene im Verlaufe der Schwangerschaft an (27), wobei die Oestriolfraction den größten Anteil ausmacht. Es bestehen hohe individuelle Schwankungen. Der Mittelwert beträgt ca. 500 μ Gesamtoestrogene/kg Placenta. Primär bildet die Placenta sicher Oestradiol, möglicherweise Oestron. Genaue Oestrogenwerte des Blutes

sind noch nicht erbracht. Der Oestriolgehalt scheint auch hier zu überwiegen (96).

CANTAROW und TRUMPER (22) fanden eine laufende Zunahme der Konzentration von 5 - 60 μ /100 ccm Serum. Die Oestrogenkonzentration im Plasma in der Spätschwangerschaft beträgt bei Oestradiol 1,25 - 2,93 μ , bei Oestron 2,65 - 10,3 μ , bei Oestriol 4,28 - 17,5 μ /100 ccm (92). Die fluorimetrische Bestimmung der Oestrogene im Blut während der Gravidität ergab im Mittel bei der Oestradiol/Oestron-Phase 11,8 μ /10 ccm, bei der Oestriol-Phase 5,17 μ /10 ccm (109).

Eigene Untersuchungen über die Oestrogenausscheidung in der Schwangerschaft

Diese Untersuchungen erstreckten sich auf sechs Frauen, von denen sich zwei im ersten, eine im zweiten und drei im letzten Drittel der Schwangerschaft befanden. Es wurden in jedem Fall drei bis vier Untersuchungen durchgeführt, um ungefähre Anhaltspunkte über die Durchschnittswerte der verschiedenen Oestrogene in den einzelnen Schwangerschaftsdritteln zu erhalten. Einzeluntersuchungen haben bei der schwankenden Tagesausscheidung recht wenig Sinn.

Die Ergebnisse sind aus Tabellen und Abbildungen ersichtlich.

I. Fall

Fräulein H. - neunte Schwangerschaftswoche.

27jährige II-para. Zyklus $\frac{28}{2}$ Tage, geringe Dysmenorrhoe.

L. P.: 15. 12. 1957

Man findet folgende Durchschnittswerte:

Bei Oestradiol:	42,78 μ
Bei Oestron:	167,29 μ
Bei Oestriol:	419,64 μ

Im Vergleich zum Zyklus beträgt die Zunahme:

Bei Oestradiol ungefähr	22,46 μ
Bei Oestron ungefähr	141,25 μ
Bei Oestriol ungefähr	395,92 μ

II. Fall

Fräulein T. - zwölfte Schwangerschaftswoche.

21jährige I-para. Zyklus $\frac{28}{4-5}$ Tage. L. P.: 25.9.1957

Einweisungsdiagnose: Hyperemesis gravidarum.

Die Durchschnittswerte betragen:

Bei Oestradiol: 69,26 μ

Bei Oestron: 214,96 μ

Bei Oestriol: 515,28 μ

Hier sind im Vergleich zum Zyklus die Ausscheidungswerte der drei Fraktionen wie folgt angestiegen.

Bei Oestradiol um 48,94 μ

Bei Oestron um 188,92 μ

Bei Oestriol um 491,56 μ

Frühschwangerschaften

Tabelle 8. Grav.

9. Woche17.2.1958

TM: 900 ccm

Oestriol: 582,57 γ Oestron: 172,40 γ Oestradiol: 39,95 γ 18.2.1958

TM: 910 ccm

Oestriol: 530,19 γ Oestron: 184,28 γ

Oestradiol: -

19.2.1958

TM: 700 ccm

Oestriol: 461,35 γ Oestron: 160,91 γ Oestradiol: 38,83 γ 20.2.1958

TM: 1420 ccm

Oestriol: 104,45 γ Oestron: 151,55 γ Oestradiol: 49,57 γ

Tabelle 9. Grav.

12. Woche17.12.1957

TM: 560 ccm

Oestriol: 217,49 γ Oestron: 199,22 γ Oestradiol: 69,81 γ 18.12.1957

TM: 550 ccm

Oestriol: 317,18 γ Oestron: 192,65 γ Oestradiol: 61,71 γ 19.12.1957

TM: 1000 ccm

Oestriol: 882,68 γ Oestron: 246,29 γ Oestradiol: 105,96 γ 20.12.1957

TM: 1350 ccm

Oestriol: 643,77 γ Oestron: 221,66 γ Oestradiol: 39,56 γ

Zweites Schwangerschaftsdrittel

Tabelle 10 Grav.

18. Woche24.3.1958

TM: 2000 ccm

Oestriol: 4990,05 μ Oestron: 372,16 μ Oestradiol: 239,34 μ 25.3.1958

TM: 1850 ccm

Oestriol: 6096,34 μ Oestron: 688,50 μ Oestradiol: 290,45 μ 26.3.1958

TM: 1800 ccm

Oestriol: 5719,73 μ Oestron: 748,70 μ Oestradiol: 538,53 μ 27.3.1958

TM: 1900 ccm

Oestriol: 4338,05 μ Oestron: 249,56 μ Oestradiol: 331,59 μ

III. Fall

Frau H. - achtzehnte Schwangerschaftswoche.

25jährige II-pa. Zyklus $\frac{28}{3-4}$ Tage. L. P.: 18.11.1957

Einweisungsdiagnose: Nephropathie.

Hier finden wir folgende Durchschnittswerte:

Bei Oestradiol:	349,99	μ
Bei Oestron:	514,73	μ
Bei Oestriol:	5286,04	μ

Die Ausscheidungswerte sind im Vergleich zum Zyklus folgendermaßen vermehrt:

Bei Oestradiol um	329,67	μ
Bei Oestron um	488,69	μ
Bei Oestriol um	5262,32	μ

IV. Fall

Frau F. - zweiunddreißigste Schwangerschaftswoche.

22jährige I-pa. Zyklus $\frac{28}{4-5}$ Tage. L. P.: 1.6.1957

Einweisungsdiagnose: Pyelitis.

Am 21.2.1958 erfolgte die Spontangeburt eines 2940 g schweren und 49 cm langen reifen Knabens. Die Placenta wog 550 g. In diesem Fall betragen die Durchschnittswerte:

Bei Oestradiol:	164,19	μ
Bei Oestron:	1079,99	μ
Bei Oestriol:	9262,49	μ

Der Anstieg im Vergleich zum Zyklus erfolgt:

Bei Oestradiol um	143,87	μ
Bei Oestron um	1053,95	μ
Bei Oestriol um	9238,77	μ

V. Fall

Fräulein K. - achtunddreißigste Schwangerschaftswoche.

30jährige I-pa. Unregelmäßiger Zyklus mit Dysmenorrhoe. L. P.: 25.5.1957

Die Entbindung eines 2550 g schweren, 48 cm langen Mädchens erfolgte am

13.3.1958. Das Gewicht der Placenta betrug 390 g.

Die Oestradiolwerte mit durchschnittlich	259,08 μ
die Oestronwerte mit durchschnittlich	1630,58 μ und
die Oestriolwerte mit durchschnittlich	5893,91 μ

sind relativ niedrig.

Die Zunahme im Vergleich zum Zyklus beträgt:

Bei Oestradiol:	238,76 μ
Bei Oestron:	1604,54 μ
Bei Oestriol:	5870,19 μ

VI. Fall

Fräulein B. - neununddreißigste Schwangerschaftswoche.

28jährige II-para. Zyklus $\frac{28}{3-4}$ Tage. L. P.: 14.5.1957

Am 15.2.1957 gebar Fräulein B. spontan ein reifes Mädchen, das 3170 g wog und 50 cm lang war. Die Geburt verlief komplikationslos. Die Placenta war 560 g schwer.

Aus dem Diagramm ergeben sich folgende Durchschnittswerte:

Oestradiol:	1122,75 μ
Oestron:	2743,07 μ
Oestriol:	5409,33 μ

Gegenüber Zykluswerten findet man eine Zunahme:

Bei Oestradiol um	1102,43 μ
Bei Oestron um	2717,03 μ
Bei Oestriol um	5385,61 μ

Tabelle 11. Grav. Spätschwangerschaften

<u>32. Woche</u>	<u>38. Woche</u>	<u>39. Woche</u>
<u>4.1.1958</u>	<u>21.2.1958</u>	<u>10.2.1958</u>
TM: 1420 ccm	TM: 1380 ccm	TM: 760 ccm
Oestriol: 8523,10 γ	Oestriol: 7795,78 γ	Oestriol: 3667,22 γ
Oestron: 808,25 γ	Oestron: 1359,49 γ	Oestron: 1746,98 γ
Oestradiol: 308,00 γ	Oestradiol: 481,68 γ	Oestradiol: 549,50 γ
<u>5.1.1958</u>	<u>25.2.1958</u>	<u>11.2.1958</u>
TM: 1700 ccm	TM: 870 ccm	TM: 910 ccm
Oestriol: 10803,94 γ	Oestriol: 4300,39 γ	Oestriol: 6318,77 γ
Oestron: 1339,79 γ	Oestron: 2095,06 γ	Oestron: 3665,81 γ
Oestradiol: 29,91 γ	Oestradiol: 68,93 γ	Oestradiol: 204,19 γ
<u>6.1.1958</u>	<u>26.2.1958</u>	<u>12.2.1958</u>
TM: 1210 ccm	TM: 1010 ccm	TM: 1000 ccm
Oestriol: 7689,86 γ	Oestriol: 5585,56 γ	Oestriol: 6237,57 γ
Oestron: 1086,06 γ	Oestron: 1437,20 γ	Oestron: 2211,09 γ
Oestradiol: 73,91 γ	Oestradiol: 226,63 γ	Oestradiol: 698,09 γ
<u>7.1.1958</u>		<u>13.2.1958</u>
TM: 1550 ccm		TM: 1150 ccm
Oestriol: 10033,07 γ		Oestriol: 5413,74 γ
Oestron: 1085,84 γ		Oestron: 3348,38 γ
Oestradiol: 244,95 γ		Oestradiol: 3039,21 γ

DISKUSSION

I. Zyklus

Die an drei normalen Zyklen durchgeführten Untersuchungen führten zu folgenden Resultaten:

Die im Harn ausgeschiedenen Oestrogenmengen sind in der ersten Woche des Zyklus am geringsten und beginnen dann allmählich zu einem Gipfel, um den Ovulationstermin, anzusteigen. Diese Ovulationsspitze, die durch die zunehmende Oestrogenproduktion eines schnell heranreifenden Follikels verursacht zu sein scheint, ist ein Hinweis für den Zeitpunkt der praeovulatorischen Phase.

Dem Ovulationsgipfelpunkt folgt im allgemeinen zunächst ein Abfall der Oestrogenausscheidung. Während dieser Phase des Zyklus laufen die Änderungen der Oestron- und Oestradiolwerte ziemlich parallel, während die Oestriolwerte ungefähr 24 Stunden hinter ihnen zurückbleiben. Die Abnahme der Oestrogene nach der Ovulation ist vermutlich durch das Platzen des Follikels bedingt.

Nach diesem Abfall neigen die Oestrogenwerte in der lutealen Phase zu einem zweiten Gipfelpunkt anzuwachsen, der zwischen dem 18. und 25. Tag, also zur Blütezeit des Corpus luteum auftritt, um dann erneut vor der Periode abzusinken. Auch hier hinkt das Oestriol dem Oestradiol und Oestron nach.

Der verkürzte Zyklus zeigt eine geringgradig höhere Ausscheidung der Oestradiolwerte gegenüber normalen Zyklen (24 μ gegenüber 20 μ). Die Oestronwerte befinden sich mit 25 μ innerhalb der physiologischen Schwankungsbreite. Die Oestriolausscheidung liegt mit 16,41 μ gegenüber 23,72 μ unter der Norm. Betrachtet man die praeovulatorische und die nur ca. 6tägige Corpus luteum-Phase getrennt, so sind vor dem Follikelsprung die Oestradiolwerte (28,25 μ) gegenüber normalen Zykluswerten (17,43 μ) stark erhöht, die Oestronwerte gleich und die Oestriolwerte (14,30 μ gegenüber 20,78 μ) erheblich vermindert. In der Corpus luteum-Phase dagegen zeigen das Oestron eine leichte Erhöhung, das Oestradiol und vor allem das Oestriol eine Erniedrigung.

Alle drei Oestrogenfraktionen haben ihre Ovulationsspitze gemeinsam am 11. Tag, was der Norm entspricht.

Beide pathologisch ovulatorischen Zyklen weisen vom 14. bzw. 20. Tag ab eine hohe Oestronausscheidung auf (39,13 μ gegenüber 26,04 μ), während die Oestriolausscheidung und in besonderem Maße die Oestradiolausscheidung (7,95 μ gegenüber 20,32 μ) gegenüber der Norm vermindert sind.

Beim pathologischen Zyklus III bezieht sich die hohe Oestronausscheidung (47,74 μ) ausschließlich auf die praeovulatorische Phase, während in der Corpus luteum-Phase die Werte eher geringer sind. Bei diesem Zyklus liegt das Oestriol (12,46 μ) um etwa die Hälfte niedriger gegenüber normalen Werten.

II. Schwangerschaft

Die Prüfung der Oestrogenausscheidung bei sechs normalen Graviditäten zeigt folgendes Bild:

Alle drei Oestrogenfraktionen weisen ab der 9. Woche einen rapiden Anstieg auf, der wohl darauf zurückzuführen ist, daß zu dieser Zeit der Schwangerschaft die Placenta neben dem Corpus luteum in höherem Maße die phenolischen Steroide produziert. Schon bald erfährt das Diagramm der Oestrogenausscheidung im Harn eine Änderung in dem Sinne, daß das Oestriol stärker ansteigt als das Oestradiol und Oestron. Das Oestron- und Oestradiolwerte steigen zwar bis zum Ende der Schwangerschaft ebenfalls kontinuierlich an, jedoch nicht in diesem Ausmaß. Beim Oestradiol, dem wirksamsten Oestrogen, beobachten wir folgenden Ausscheidungsverlauf: Die Werte der 9. und 12. Schwangerschaftswoche sind gegenüber Zykluswerten kaum erhöht. In der 18. Woche erfolgt dann ein ziemlich rascher Anstieg auf das 15fache, am Ende der Gravidität um etwa das 50fache.

Das Oestron, das am Anfang der Gravidität langsam ansteigt, beträgt in der 9. Woche ca. das 5fache, in der 18. das 12fache, in der 32. Woche das 30fache und am Ende der Schwangerschaft das fast 100fache seiner Zykluswerte.

Das Oestriol spielt unter den drei Oestrogenfraktionen quantitativ die bedeutendste Rolle. Seine Menge ist in der 9. Schwangerschaftswoche ungefähr 10mal, in der 18. Woche mehr als 100mal und schließlich in der 32. Woche 200mal höher, als während des Menstruationszyklus. Die Ausscheidung der Schwangeren in der 38. und 39. Woche war wieder niedriger, woraus aber bei den Einzelfällen keine Schlüsse gezogen werden dürfen.

ZUSAMMENFASSUNG

Nach einleitenden Vorbemerkungen erfolgt am Anfang dieser Arbeit eine Darstellung über die chemische Konstitution, die wichtigsten Bildungsstätten der Oestrogene, sowie über ihr Schicksal im Organismus der Frau.

Im methodischen Teil werden die wichtigsten biologischen und chemischen Bestimmungsmethoden für Phenolsteroider erwähnt. Es folgt dann die detaillierte Beschreibung des chemischen Verfahrens nach J. B. BROWN, das alle drei Oestrogenfraktionen getrennt erfaßt.

Nach dieser Methode werden die eigenen Untersuchungen durchgeführt. Sie betreffen die Oestrogenausscheidung bei normalen und pathologischen Zyklen, sowie bei Graviditäten. Aufgrund der Ausscheidungsversuche ergeben sich folgende Schlußfolgerungen:

I. Zyklus

1. Im normalen Zyklus treten zwei Gipfelpunkte der Oestrogenausscheidung auf und zwar:
 - a) Zur Zeit der Ovulation.
 - b) Während des Blütestadiums des Corpus luteum.
2. Die Oestradiolausscheidung ist fast immer niedriger als die entsprechende Oestronausscheidung.
Das Verhältnis Oestron zu Oestradiol beträgt etwa 2:1.
3. Ein konstantes Verhältnis zwischen Oestriol und Oestron besteht nicht. Die Oestriolwerte liegen entweder höher oder sind dem Oestron gleich.

Der verkürzte Zyklus zeigt einen physiologischen Ablauf bis zur Ovulation bei allerdings erhöhtem Oestradiol und vermindertem Oestriol.

In der vorzeitig abgebrochenen Corpus luteum-Phase liegen dagegen die Oestronwerte höher, die Oestradiol- und vor allem die Oestriolwerte tiefer, als die normalen Zykluswerte.

Im Vergleich zu normalen Zyklen lassen die pathologisch ovulatorischen Zyklen eine hohe Oestron-, eine niedrige Oestriol- und eine in besonderem Maße verminderte Oestradiolausscheidung erkennen.

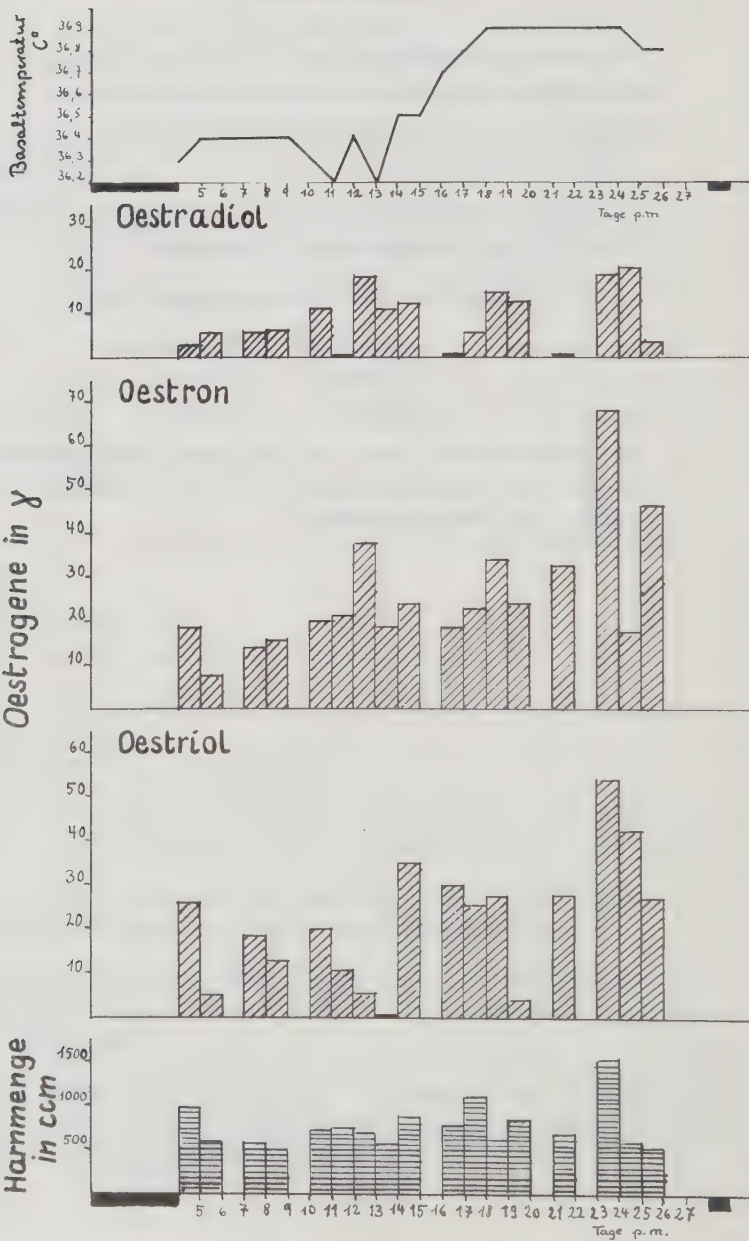
II. Schwangerschaft

1. Die Oestrogenausscheidung unterliegt in ihren Größenwerten während der Schwangerschaft individuell hohen Schwankungen.
2. Es treten außerdem erhebliche Tagesschwankungen in der Oestrogenausscheidungs menge auf.
3. Das Oestriol überwiegt mengenmäßig während der Gravidität weitgehend die beiden anderen Oestrogenfraktionen.
4. Der Anstieg gegenüber Zykluswerten beträgt beim

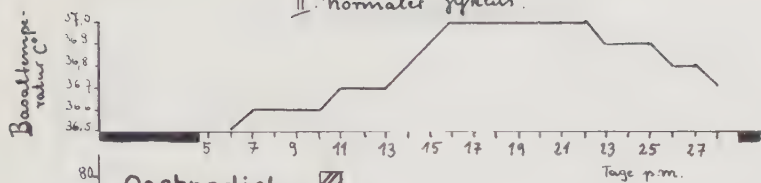
Oestradiol	331,06	γ
Oestron:	1007,47	γ
Oestriol:	4378,58	γ

5. Die Untersuchungen geben trotz der großen individuellen und Tagesschwankungen der Ausscheidung in etwa das Verhalten der Oestrogene während der Gravidität wieder.

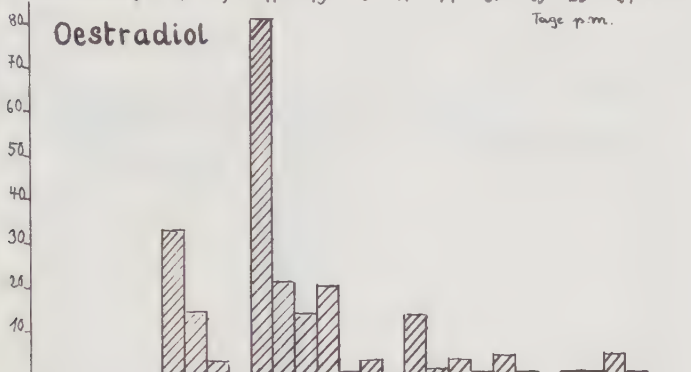
I. normaler Zyklus.



II. normaler Zyklus.

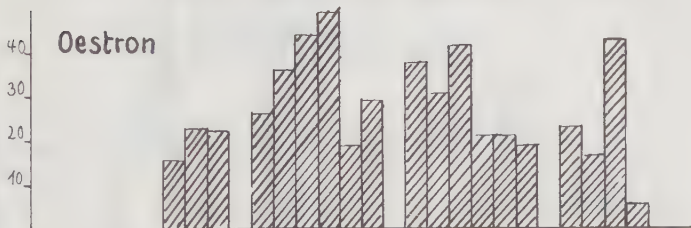


Oestradiol

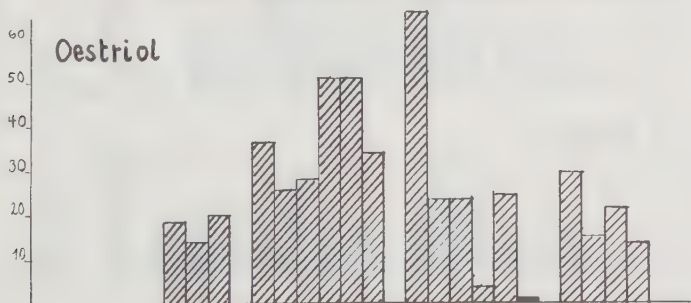


Oestrogene in μ

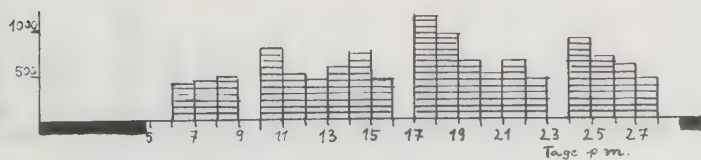
Oestron



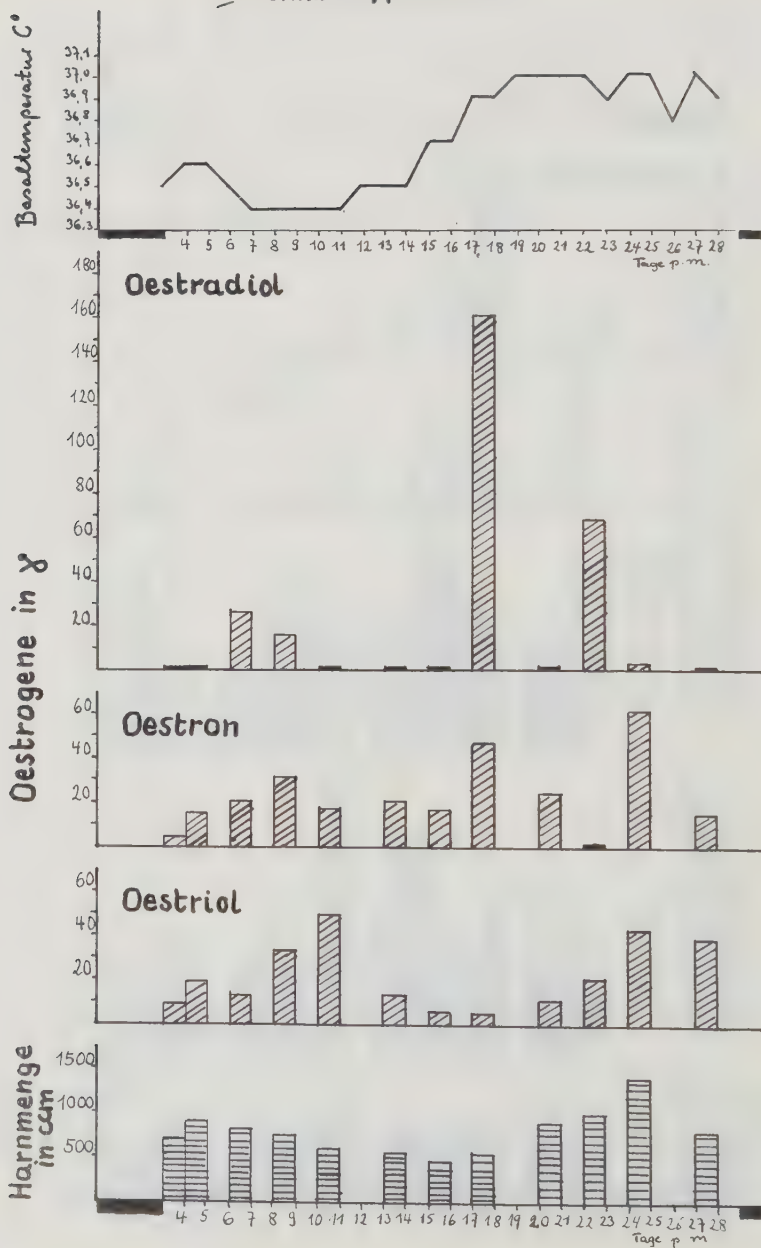
Oestriol



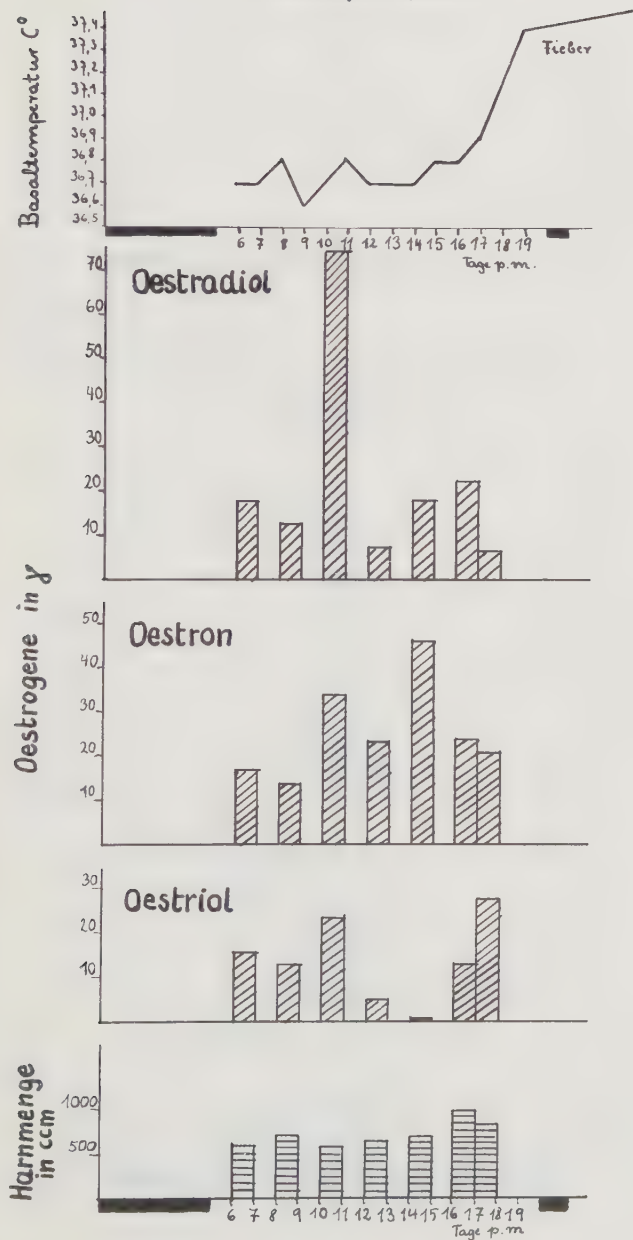
Hormenge
in μ cm



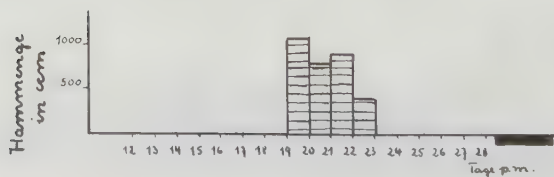
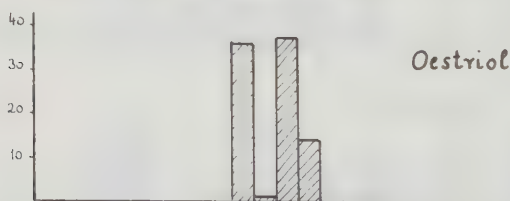
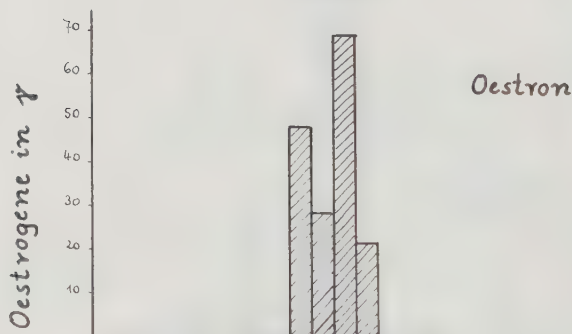
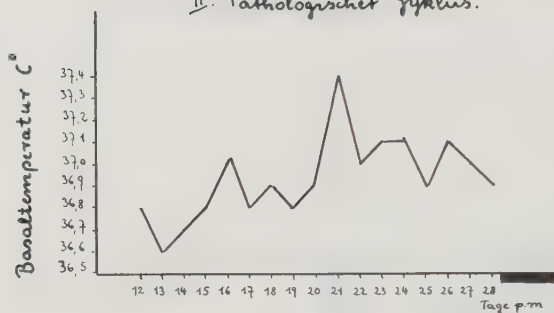
III. normales Zyklus.



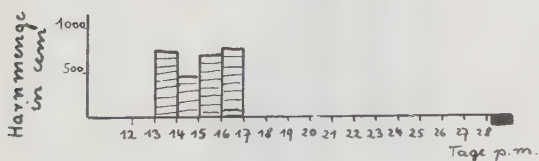
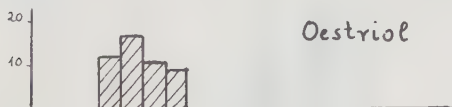
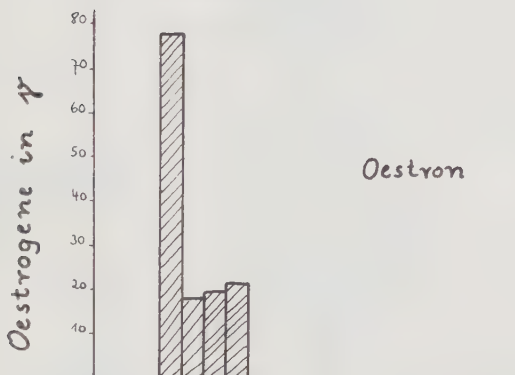
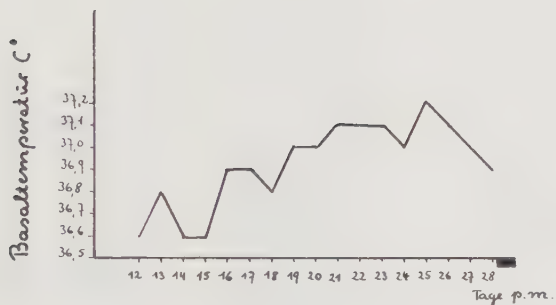
I. Verkürztes Zykklus



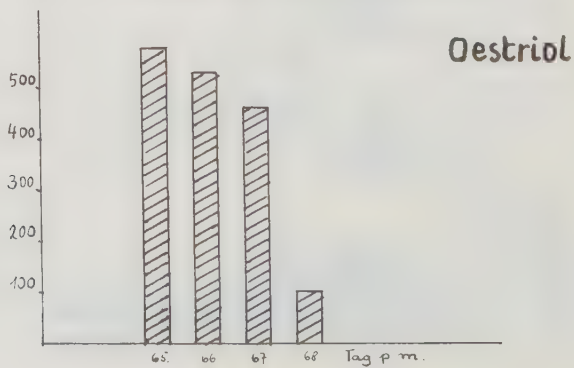
II. Pathologischer Zyklus.



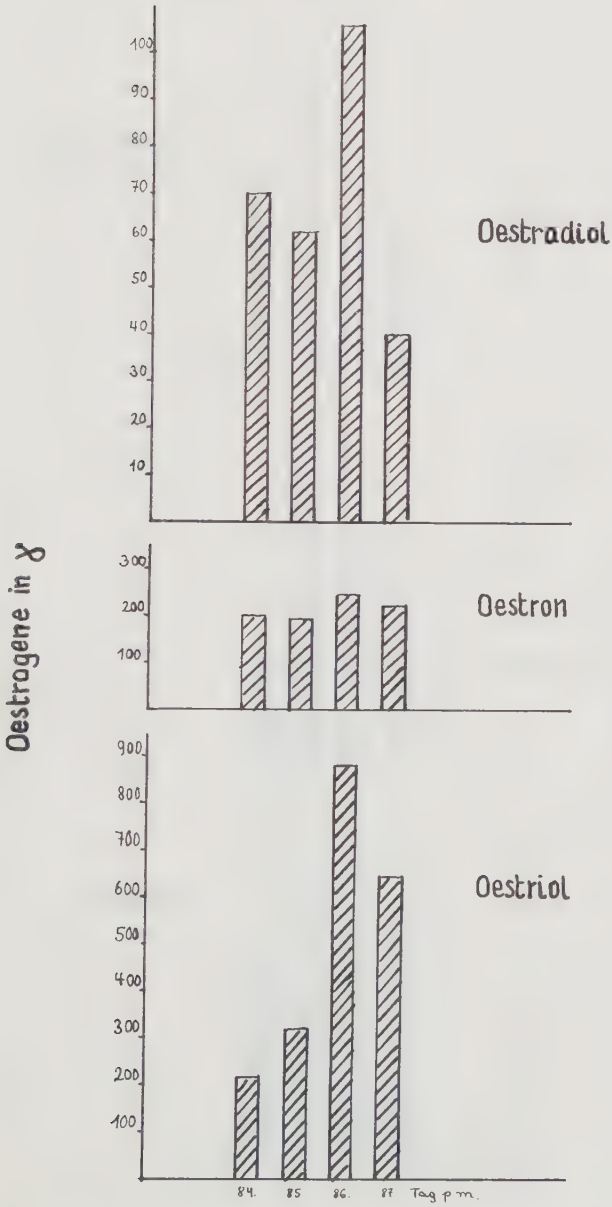
III. Pathologischer Zyklus



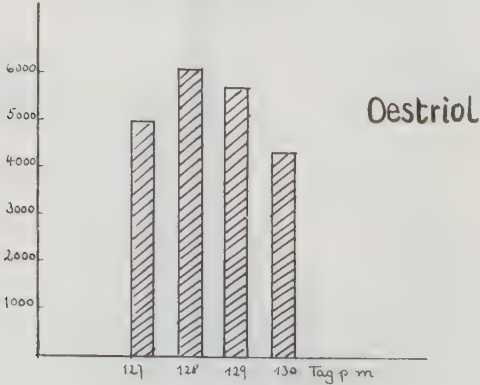
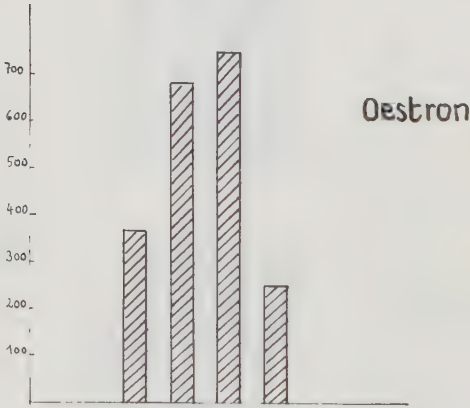
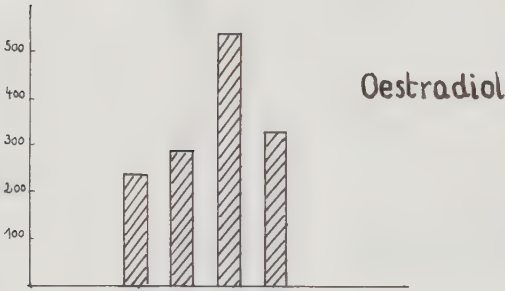
9 Schwangerschaftswoche

Oestrogene in γ 

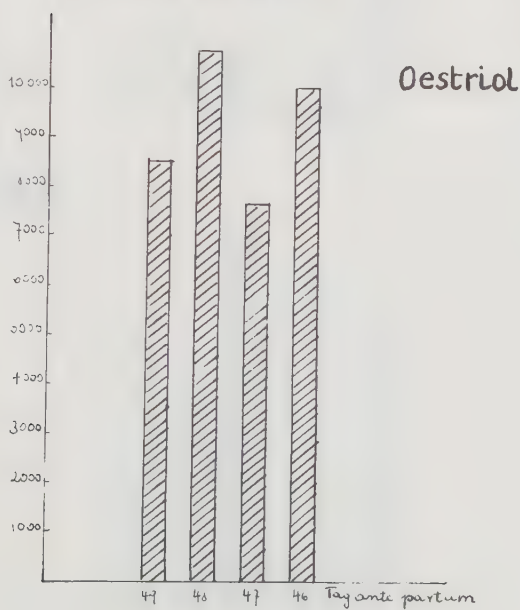
12. Schwangerschaftswoche



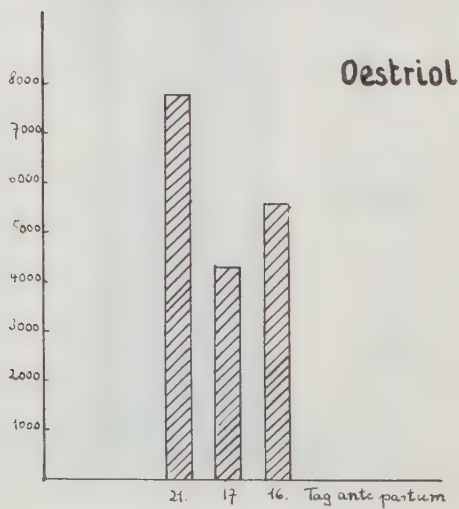
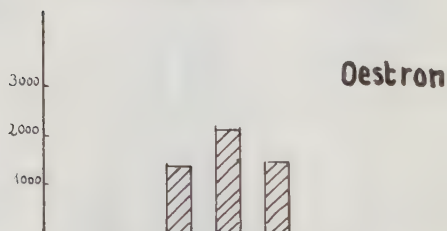
Oestrogene in γ



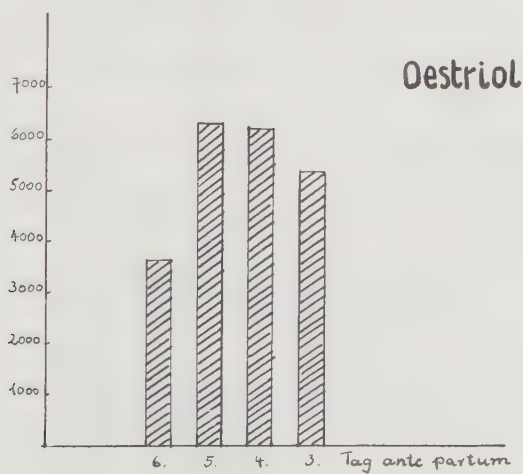
32 Schwangerschaftswoche

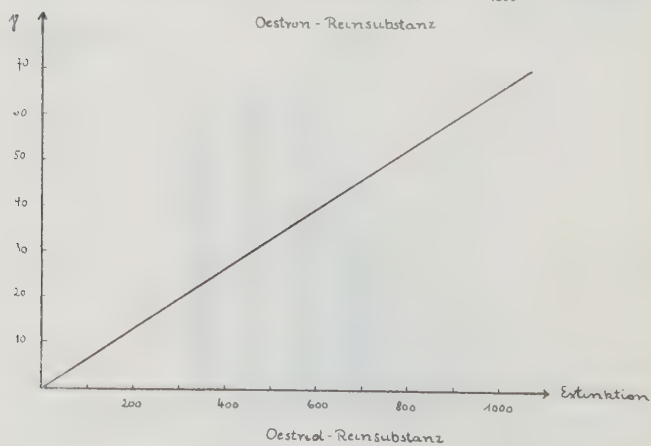
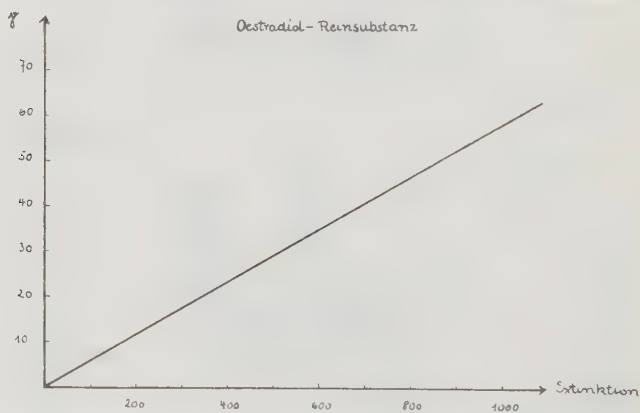
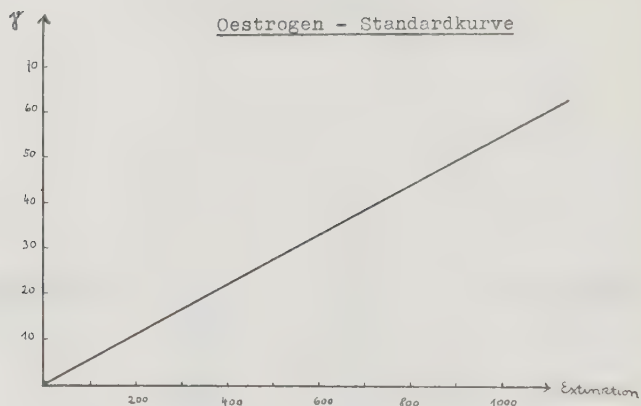
Oestrogene in γ 

38. Schwangerschaftswoche

Oestrogene in γ 

39. Schwangerschaftswoche

Oestrogene in μ 



LITERATURANGABEN

- 1 Allen, E.: J. Clin. Endocrin. 10, 71 (1950)
- 2 Allen, E. und E. A. Doisy:
J. Amer. Med. Assoc. 81, 819 (1923)
- 3 Ammon, R. und W. Dirscherl:
"Fermente, Hormone, Vitamine" (1948)
- 4 Amour de, F. E.: J. Clin. Endocrin. 3, 41 (1943)
- 5 Bachman, G.: J. of Biol. Chem. 131, 455 (1939)
- 6 Bachman, G.: Amer. J. Obstetr. 42, 599 (1941)
- 7 Bachman, G. und D. S. Pettit:
J. Biol. Chem. 138, 689 (1941)
- 8 Breitner, J.: Arch. Gynäk. 185, 258 (1954)
- 9 Breitner, J. und A. Eichstädter:
Ärztl. Forschung 10, 457 (1954)
- 10 Brown, J. B.: Mem. Soc. Endocrin. 3, 9 (1955)
- 11 Brown, J. B.: Biochemic. J. 60, 185 (1955)
- 12 Brown, J. B.: Lancet 1, 704 (1956)
- 13 Brown, J. B.: J. Endocrin. 8, 196 (1952)
- 14 Brown, J. B.: Lancet 1, 320 (1955)
- 15 Butenandt, A. Weidlich und Thompson:
Ber. dtsh. chem. Ges. 66, 601 (1933)
- 16 Butenandt, A. und Thompson:
Ber. dtsh. chem. Ges. 67, 140 (1934)
- 17 Butenandt, A. und Goergens:
Hoppe-Seylers Z. 248, 129 (1937)
- 18 Butenandt, A. und Jacobi:
Hoppe-Seylers Z. 218, 104 (1933)

- 19 Butenandt, A.: Naturwissenschaften 17, 879 (1929)
- 20 Butenandt, A.: Dtsch. med. Wschr. 55, 2171 (1929)
- 21 Butenandt, A.: Berl. dtsch.chem. Ges. 63, 659 (1930)
- 22 Cantarow und Trumper:
Clin. Biochem. (1945)
- 23 Clayton, B. E.: J. Clin. Endocrin. 14, 815 (1954)
- 24 Cohen, S. L. und G. F. Marrian:
Biochem. J. 28, 1603 (1934)
- 25 Cohen, S. L. und R. W. Bates:
J. Clin. Endocrin. 7, 701 (1947)
- 26 Cohen, S. L. und R. W. Bates:
Endocrinology 166, 182 (1950)
- 27 Diczfalusy, E.: Acta endocrinol. 12 (1953)
- 28 Diczfalusy, E.: Acta endocrinol. 10, 373 (1952)
- 29 Diczfalusy, E.: Gebhulf. und Frauenheilk. Jan. (1953)
- 30 Dingemanse, E. und E. Laqueur:
Nederl. Tijdskr. Geneesk. 328 (1940)
- 31 Doisy, E. A., Mac Corquodale und Thayer:
Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 32, 1182 (1935)
J. Biol. Chem. (Am.) 115, 435 (1936)
- 32 Doisy, E. A., G. V. Smith, O. W. Smith, Huffman, Thayer
und mac Corquodale:
J. biol. Chem. (Am.) 130, 431 (1939)
- 33 Doisy, E. A., Huffman und Thayer:
J. biol. Chem. (Am.) 133, 567 (1940)
- 34 Doisy, E. A., C. D. Veler und S. A. Thayer:
Amer. J. Physiol. 90, 329 (1929)
- 35 Doisy, E. A.: J. of Biol. Chem. 86, 499 (1930)
- 36 Doisy, E. A. und J. M. Curtis:
J. Biol. Chem. 91, 647 (1931)

- 37 Edelbacher und F. Leuthardt:
"Physiol. Chemie" (1955)
- 38 Eichenberger, E. und K. Hofmann:
Gynaecologia 133, 129 (1952)
- 39 Evans, J. S. und Long:
Mem. Univ. California 6 (1922)
- 40 Evans, J. S., Varney und F. C. Koch:
Endocrinologie (Am.) 28, 744 (1941)
- 41 Evans, J. S. und Varney:
J. Biol. Chem. (Am.) 140, 38 (1941)
- 42 Finkelstein, M.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 69, 181 (1948)
- 43 Fluhmann, C. F.: Endocrinology 15, 177 (1931)
- 44 Fluhmann, C. F.: Surg. Gyn. a. Obstetr. 60, 330 (1935)
- 45 Friedgood-Garst, H. B. und J. B. Haagen-Smith:
J. Biol. Chem. 174, 522 (1948)
- 46 Geigy: Wissenschaftl. Tabellen (1953)
- 47 Gerli, M.: Ann. Ostetr. 11, 1419 (1951)
- 48 Gustavson, R. G., L. W. Mason, E. E. Hays, Th. R. Wood und
F. d'Amour: Amer. J. Obstetr. 35, 115 (1938)
- 49 Hain, A. M.: J. Clin. Endocrin. 2, 104 (1940)
- 50 Heusghem, C. und W. Verly:
Rapports 3. Réun. Endocrinol. Langue franc.
139 (1955)
- 51 Humm, F. D., P. L. Munson und W. T. Salter:
J. Clin. Invest. 28, 790 (1949)
- 52 Jailer, J. W.: Endocrinology 41, 198 (1947)
- 53 Jailer, J. W.: J. Clin. Endocrin. 8, 564 (1948)
- 54 Jayle, M. F.: Presse méd. 18, 377 (1952)
- 55 Kaiser, R.: "Klinische und endokrinologische Untersuchungen
über die Phys. u. Path. d. Corpus-luteum-Funktion."
Hab. Schr. (1958)

- 56 Kaiser, R.: Arch. Gynäk. 179, 115 (1951)
- 57 Kaiser, R.: Gebhülf. und Frauenheilk. 11, 1006 (1952)
- 58 Kaiser, R.: Klin. Wschr. 1/2, 15 (1955)
- 59 Kaiser, R. und A. Eichstädter:
Arch. Gynäk. 185, 726 (1955)
- 60 Kaufmann, C. und U. Westphal:
Klin. Wschr. 57/58, 910 (1947)
- 61 Kaufmann, C., U. Westphal und J. Zander:
Arch. Gynäk. 179, 237 (1951)
- 62 Keller, M.: Gynaecologia 136, 358 (1953)
- 63 Klein, J.: Gebhülf. und Frauenheilk. 5, 418 (1951)
- 64 Kleiner: J. of Biol. Chem. 138, 83 (1948)
- 65 Kober, S.: Biochem. J. 239, 209 (1931)
- 66 Kober, S.: Biochem. J. 32, 357 (1938)
- 67 Koller, Th. und F. Leuthardt:
Schweiz. med. Wschr. 12 (1941)
- 68 Laqueur, E., E. Dingemanse,
de Jongh und S. Kober:
Dtsch. med. Wschr. 56, 301 (1930)
- 69 Lawrence und Werthesen:
Endocrinology 27, 755 (1940)
- 70 Leuthardt, F. u. Th. Koller:
Zbl. Gynäk. 45, 1972 (1941)
- 71 Leuthardt, F. und Th. Koller:
Mschr. Gebhülf. 118, 1 (1944)
- 72 Levitz, M., Condon, G. P. und J. Dancis:
Endocrinology 58, 376 (1956)
- 73 Loewe, Lange und Spohr:
Biochem. Z. 180, 1 - 26 (1927)
- 74 Loewe: Klin. Wschr. 1407 (1925)

- 94 Puck, A.: Klin. Wschr. 808 (1957)
- 95 Puck, A. und K. Hübner:
Akta endocrinol. 22, 191 (1956)
- 96 Puck, A., W. Korte und K. Hübner:
Dtsch. Med. Wschr. 44, 1864 (1957)
- 97 Runge, H. und C. Clausnitzer:
Zbl. Gynäk. 2450 (1932)
- 98 Ryan, K. J. und L. Engel:
Endocrinology 52, 277 (1953)
- 99 Schwenk und Hildebrandt:
Naturwissenschaften 21, 177 (1933)
- 100 Siebke, H.: Zbl. Gynäk. 1601 (1930)
- 101 Smith, O. W., G. V. Smith und G. Pincus:
Amer. J. Physiol. 121, 98 (1937)
- 102 Smith, O. W., G. V. Smith und S. Schiller:
Amer. J. Obstetr. 45, 15 (1943)
- 103 Stevenson, R. und G. F. Marrian:
Biochem. J. 41, 507 (1947)
- 104 Stimmel, B. und C. Stealy:
J. Clin. Endocrin. 12, 489 (1952)
- 105 Stockard, C. R. und G. N. Papanicolaou:
Amer. J. Anat. 22, 225 (1917)
- 106 Szego und Samuels: J. of Biol. Chem. 151, 587 (1943)
- 107 Talbot, N. B., Wolfe, Mc. Lachlan und Butler:
J. Biol. Chem. 134, 319 (1940)
- 108 Tompsett, S. L.: Analyst. 74, 6 (1949)
- 109 Varangot, J., A. Seeman und L. Cedard:
S. Hop./Path. Biol./Ann. Rech. méd. (1957)
- 110 Wenner, R.: Zbl. Gynäk. 268 (1941)
- 111 Werner, S. C.: J. Clin. Invest. 20, 21 (1941)

- 112 Wieland, H. und Dane:
Hoppe-Seylers Z. 210/274 (1932)
- 113 Wintersteiner, Schwenk, Hirschmann und Whitman:
J. Amer. Chem. Soc. 58, 2652 (1936)
- 114 Wintersteiner und Hirschmann:
J. Biol. Chem. 119, CVII (1937)
- 115 Wintersteiner, Schwenk und
Whitman: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 32, 1087 (1935)
- 116 Zimmermann: Chem. Best. methoden v. Steroidhormonen (1955)
- 117 Zondek, B.: "Die Krankheiten der endocrinen Drüsen."
B. Schwabe (1953)

Nachtrag

- 118 Aschheim, S. und B. Zondek:
Klin. Wschr. 6, 1322 (1927)
- 119 Butenandt, A.: Ztschr. physiol. Chem. 191, 127, 140 (1930)
- 120 Kaiser, R.: Dtsch. Med. Wschr. 38, 1673 - 1677 (1958)
- 121 Mühlbock, O., H. Knaus, E. Tscherne
"Die weibl. Sexualhormone in der Pharmakotherapie"
Handbuch der Therapie: T. Gordonoff, Bern. (1948)

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. W. BICKENBACH, möchte ich an dieser Stelle herzlich für die wohlwollende Anerkennung der Arbeit danken.

Ebenso danke ich Herrn Privatdozenten Dr. R. KAISER für das Vertrauen, das er mir mit der Überlassung dieser Arbeit entgegenbrachte, sowie für seine zuvorkommende Unterstützung und Übernahme des Referates.

Mein Dank gilt gleichfalls Fräulein U. Rogowski für ihre stete Hilfsbereitschaft.

LEBENS LAUF

Am 18. September 1933 wurde ich, Elisabeth Puzik, als fünftes Kind des Hauptlehrers Viktor Puzik und seiner Ehefrau Eleonore, geborene Olejnik in Sakrau, Oberschlesien, geboren.

Vier Jahre lang besuchte ich die Volksschule in Eisenau, Kreis Oppeln und trat 1944 in das Realgymnasium in Cosel ein, dem ich bis Januar 1945 angehörte. Vom Sommer 1945 bis Herbst 1946 war ich Gastschülerin am polnischen Gymnasium in Oppeln. Nach der Ausweisung aus der Heimat setzte ich 1947 in München meine Schulausbildung fort. Hier legte ich auch im Jahre 1953 mein Abitur ab. Im Herbst desselben Jahres begann ich mit dem Studium der Medizin an der Universität in München. Nach fünf vorklinischen Semestern bestand ich hier das Physikum. Am 10. Juni 1959 absolvierte ich nach 6 klinischen Semestern ebenfalls an der Universität München das medizinische Staatsexamen.



